

**T.C.  
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TURİZM TESİSLERİNDE OZON KULLANIMININ ÇİĞ  
OLARAK TÜKETİLEN BAZI MEYVE VE SEBZELER  
ÜZERİNDEKİ ANTİMİKROBİYAL ETKİSİ**

**ALİ MANAVOĞLU**

**Danışman  
Dr. Öğr. Üyesi Arzu KART**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI  
ISPARTA - 2022**



© 2022 [Ali MANAVOĞLU]

## İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER .....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	v
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	vi
GRAFİKLER DİZİNİ .....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	viii
1. GİRİŞ .....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ .....	7
3. MATERYAL VE METOT .....	20
3.1. Meyve ve Sebze Numunelerinin temin edilmesi.....	20
3.2. pH Ölçümü .....	21
3.3. Mikrobiyolojik Analizler.....	21
3.3.1. Kontrol grupları için patojenlerin ön zenginleştirilmesi, patojen inokülasyonu ve bakteri düzeylerinin belirlenmesi.....	21
3.3.2. <i>Listeria monocytogenes</i> bakteri düzeyinin belirlenmesi.....	22
3.3.3. <i>Salmonella</i> spp. bakteri düzeyinin belirlenmesi .....	23
3.3.4. <i>Escherichia coli</i> bakteri düzeyinin belirlenmesi.....	24
3.3.5. Toplam aerob bakteri düzeyinin belirlenmesi .....	24
3.3.6. Kullanılan Cihazlar .....	25
3.3.7. Toplam Koliform Analizi .....	26
3.3.8. Küf Maya Analizi .....	26
3.4. Ozon Uygulaması .....	26
3.5. Renk Analizi .....	29
3.6. Duyusal Analizler .....	29
3.7. Kuru Madde Tayini .....	29
3.8. Ağırlık Kaybı.....	29
4. ARAŞTIRMA BULGULARI .....	30
4.1. Şebeke suyu ile yıkama işlemi yapılan kontrol grubu örneklerinde mikrobiyolojik analizler.....	31
4.2. Ozon uygulamasının test edilen mikroorganizmalar üzerine etkisi .....	32
4.3. pH analizi .....	36
4.4. Renk Analizi .....	36
4.5. Duyusal Analiz .....	37
4.6. Kuru Madde Miktarı.....	39
4.7. Ağırlık Kaybı.....	39
5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR .....	41
6. KAYNAKLAR .....	55
ÖZ GEÇMİŞ .....	61

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### TURİZM TESİSLERİNDE OZON KULLANIMININ ÇİĞ OLARAK TÜKETİLEN BAZI MEYVE VE SEBZELER ÜZERİNDEKİ ANTİMİKROBİYAL ETKİSİ

Ali MANAVOĞLU

Süleyman Demirel Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Arzu KART

Bitkisel ve hayvansal kökenli çeşitli kaynaklardan elde edilen gıdalar, gerek taze gerekse işlenmiş olarak insanların tüketimine sunulmaktadır. Büyüme, gelişme ve sağlığın korunması için tüketilen gıdalar, hasattan tüketime kadar uygun şartlar sağlanmaması durumunda sağlığımızı tehdit edebilecek ürünlere dönüşmektedirler.

Turizm hareketlerinin hızlandığı bu dönemde turistik tesis sayısı da buna bağlı olarak artmaktadır. Turistik tesislerde doluluk oranı arttıkça da mutfakta iş akışı hızlanmakta ve müşterilere en kısa sürede ulaşma çabası artmaktadır.

Turizm tesislerinde karşılaşılan en büyük problemlerden biri gıda zehirlenmeleridir. Tatil ve dinlenme amacıyla turistik tesislere giden insanların gıda zehirlenmesi yaşamaları durumunda maddi ve manevi olarak ciddi kayıplar ortaya çıkarmaktadır. Bu bakımdan turistik tesislerde müşterilere sunulan gıdaların insan sağlığını tehdit edecek ürünlere dönüşmemesi amacıyla gerekli tedbirlerin alınması oldukça önem taşımaktadır.

Yaygın olan patojenler ve ortaya yeni çıkan patojenlere karşı antimikrobiyal etkisi bulunan ozonun birçok gıda işleme uygulamasında kullanımı güvenli kabul edilmektedir. Özellikle az işlenmiş taze gıdalarda ısı işlem uygulanmadığı için bu tür ürünlerde ozon uygulamaları umut verici olarak düşünülmektedir. Isıl işlem uygulanamayan birçok gıda çeşidi üretiminde doğal bir uygulama olarak kabul edilen ozon kullanımı bu bakımdan daha çok dikkat çekmektedir. Ozonun az işlenmiş veya hiç işlenmemiş gıdalardaki bu potansiyelinden dolayı bu özelliklere sahip birçok gıdada uygulama alanı oldukça yaygındır.

Ozon gıda endüstrisinde her alanda birçok uygulama alanına sahip olsa da gıda endüstrisinde daha çok meyve ve sebzelerde ve su sterilizasyonunda kullanılmaktadır. Doğru süre ve dozda kullanıldığında ozonun mikrobiyal inaktivite de etkili olduğu düşünülmektedir.

**Anahtar kelimeler:** Ozon, Gıdalar, Oteller, Dezenfeksiyon

2022, 61 sayfa

## **ABSTRACT**

**M.Sc. Thesis**

### **ANTIMICROBIAL EFFECT OF OZONE USE IN TOURISM FACILITIES ON SOME RAW CONSUMED FRUIT AND VEGETABLES**

**Ali MANAVOĞLU**

**Süleyman Demirel Üniversitesi  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Food Engineering**

**Supervisor: Asst. Prof. Dr. Arzu KART**

Foods obtained from various sources of plant and animal origin are offered for human consumption, fresh and processed. Foods consumed for growth and protection of health can turn into products that can threaten our health if suitable conditions are not provided from harvest to consumption.

In this period when tourism movements accelerate, the number of touristic facilities increases accordingly. As the occupancy rate increases in touristic facilities, the work flow in the kitchen accelerates and the effort to reach the customers as soon as possible increases.

One of the biggest problems in touristic facilities is food poisoning. People who go to touristic facilities for vacation and rest, in case of food poisoning, cause serious financial and moral losses. It is very important to take the necessary measures in order to prevent the food offered to customers in touristic facilities from turning into products that threaten human health. Special attention should be paid to the practices that should be considered during the procurement, storage, preparation, cooking and presentation of foods as raw materials and/or finished products.

Ozone has an antimicrobial effect against common pathogens and new pathogens and is considered safe for use in many food processing applications. Especially since heat treatment is not applied in less processed fresh food, ozone applications in such products are considered promising. Use of ozone, which is accepted as a natural application in the production of many food types that cannot be heat treated, draws more attention in this regard. Due to the potential of ozone in less processed or unprocessed foods, its application is very common in many foods with these properties.

Although ozone has many applications in every field in the food industry, it is mostly used in fruit and vegetables and water sterilization in the food industry. It is thought that ozone is also effective in microbial inactivity when used in the right time and dose.

**Keywords:** Ozone, Foods, Hotels, Disinfection

**2022, 61 pages**

## TEŞEKKÜR

Bu alıŐma, turizm tesislerinde gıda zehirlenmelerinde başrol oynayan çiğ meyve ve sebzelerin ozonlanmasında dikkat edilmesi gereken noktalara değinmektedir. Yüksek Lisans tezi olarak hazırlanan bu çalışmanın konusu çiğ meyve ve sebzelerde meydana gelebilecek olan potansiyel riskleri azaltmak amacıyla ozonun gıda ürünlerinde kullanılabilirliğini kapsamaktadır. Bu alıŐma, Antalya Premium zel Gıda Kontrol Laboratuvarı bünyesinde gerçekleştirilmiştir.

Yapmış olduğum bu çalışmada gerek bilgi gerekse tecrübeleriyle bana katkıda bulunan Dr. ÖĞr. Üyesi Arzu KART'a teŐekkürü bir borç bilirim.

Ali MANAVOĞLU  
ISPARTA, 2022



## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
Şekil 2.1. Ozon uygulamasının ıspanağın görsel kalitesi üzerindeki etkisi .....	11
Şekil 3.1. Ozon uygulamada kullanılan cihazlar 1.....	27
Şekil 3.2. Ozon uygulamada kullanılan cihazlar 2.....	28
Şekil 4.1. Yüksek doz ozonun çileğe etkisi .....	38



## ÇİZELGELER DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
Çizelge 1.1. Ozonun fizikokimyasal özellikleri.....	2
Çizelge 1.2. Ozon ve diğer kimyasalların oksidasyon potansiyeli.....	2
Çizelge 1.3. Ozonun farklı sıcaklıklarda suda çözünürlüğü .....	3
Çizelge 3.1. Kullanılan Cihazlar .....	25
Çizelge 4.1. Yıkama Suyu Kontrolü .....	31
Çizelge 4.2. Ozon uygulamasının <i>Salmonella spp.</i> üzerine etkisi .....	33
Çizelge 4.3. Ozon uygulamasının <i>E.coli</i> üzerine etkisi .....	33
Çizelge 4.4. Ozon uygulamasının <i>Listeria monocytogenes.</i> üzerine etkisi.....	34
Çizelge 4.5. Ozon uygulamasının Toplam aerob bakteri üzerine etkisi .....	34
Çizelge 4.6. Ozon uygulamasının Maya ve küf üzerine etkisi.....	35
Çizelge 4.7. Ozon uygulamasının Koliform bakteri üzerine etkisi .....	35
Çizelge 4.8. Ozon öncesi ve sonrasında pH değerleri.....	36
Çizelge 4.9. Ozon uygulaması öncesi ve sonrasında renk analizi.....	37
Çizelge 4.10. Duyusal Analiz Sonuçları .....	38
Çizelge 4.11. Kuru madde miktarı .....	39
Çizelge 4.12. Ağırlık kaybı.....	40

## GRAFİKLER DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
Grafik 5.1. Ozonun <i>Salmonella spp.</i> inaktivasyonu.....	48
Grafik 5.2. Ozonun <i>E.coli</i> inaktivasyonu.....	49
Grafik 5.3. Ozonun <i>Listeria monocytogenes</i> inaktivasyonu .....	49
Grafik 5.4. Ozonun toplam aerob bakteri inaktivasyonu .....	50
Grafik 5.5. Ozonun küf maya inaktivasyonu .....	50
Grafik 5.6. Ozonun toplam koliform inaktivasyonu .....	51
Grafik 5.7. Kullanım suyu ile yıkama.....	51
Grafik 5.8. Ozonun pH üzerine etkisi .....	52
Grafik 5.9. Ozonun l* a* b* değerlerine etkisi .....	52



## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

°C	Santigrat derece
mg	Miligram
ml	Mililitre
ppm	Milyonda bir birim
FDA	Food Drug Adminastiration
Atm	Atmosfer basıncı
g	Gram
L	Litre
Mol	Bir maddenin miktarı
eV	Elektronvolt
kg	Kilogram
m <sup>3</sup>	Metreküp
uv	Ultraviyole
TUİK	Türkiye istatistik kurumu
Dk	Dakika
Kob	Koloni oluşturma birimi
cfu	Colony forming unit
Arg	Antibiyotik direnç gençleri
Mge	Mobil genetik element
DBD	Dielektrik bariyerdeşarj
cm	Santimetre
kj	Kilo joul
PAL	Fenilalanin amonyak liyaz
PPO	Polifenol oksidaz
POD	Peroksidaz
GAP	İyi tarım uygulamaları

## 1. GİRİŞ

Günümüzde sağlıklı beslenme konusunda tüketicilerin bilinçlenmesi, daha kaliteli ve güvenli gıdaya yönelişine sebep olmaktadır. Bu durum, gıda üreticilerini de etkilemekte ve uygulamalarında gıda güvenliği ilkesini temel almaktadırlar.

Ozon, hızla oksijene parçalanması, hiçbir kalıntı bırakmaması sebebiyle başta gıda, kimyasal endüstri ve sağlık sektörü olmak üzere birçok farklı alanda koruyucu ve dezenfeksiyon amaçlı kullanılmaktadır (Çelik, 2019).

Ozon yapısında üç oksijen atomuna sahip, oda sıcaklığında renksiz, kendine has kokusu olan bir gazdır. Stratosfer tabakasında doğal olarak bulunan ozon, güneşin UV ışınları tarafından oluşmaktadır. Ozon bilinen en etkili mikrop öldürücü ve koku gidericilerden biridir. Yüksek oksidasyon gücü sayesinde diğer dezenfektanlara göre oldukça iyi olması, uygulanmasının ardından hızlıca oksijene parçalanması ve hiçbir kalıntı bırakmaması sebebiyle başta gıda ve kimya endüstrisi olmak üzere birçok farklı alanda kullanılmaktadır. Ozon gaz ve sıvı formda uygulanabilmektedir.

Ozonun hücre üzerindeki etki mekanizması ise hücre zarında bulunan proteinlere, doymamış lipit ve enzimlere, hücre duvarında bulunan peptidoglikan tabakasına, sitoplazmadaki enzim ve nükleik asitlere ve virüs kapsidleri üzerinde etkilidir (Skog ve Chu, 2001).

FDA tarafından kullanımı güvenli ajanlar sınıfında kabul edilen ozon üzerinde yapılan çalışmalar, ozonun bakterisidal etkisinin konsantrasyon ve süreye bağlı olarak artış gösterdiğini ortaya koymuştur. Bu yüzden yapılan çalışmalardan çıkarılacak sonuçlar ile ozonun optimum çalışma süresi ve konsantrasyonunu belirlemek gerekmektedir. Ozonun temel fizikokimyasal özellikleri Çizelge 1.1'de görülmektedir (Horvath, 1985; Ullmann, 2005)

Çizelge 1.1. Ozonun fizikokimyasal özellikleri

<b>Ozonun Özellikleri</b>	<b>Sayısal Değerler</b>
Erime noktası (1 atm)	-192.5 °C
Kaynama noktası (1 atm)	-111.9 °C
Yoğunluk (gaz ozon)	2.4 g/L
Moleküler ağırlık	48 g/mol
Oksidasyon potansiyeli	2.07 (eV)

Ozona alternatif olarak kullanılabilen diğer bazı kimyasalların oksidasyon potansiyelleri Çizelge 1.2’de verilmiştir (Ullmann, 2005). Gaz formundaki ozonun oksidasyon potansiyeli 2.07 eV’ dir. Bu değer floridan sonra ikinci sırada yer alan en yüksek oksidasyon potansiyel oranını ifade etmektedir. Dolayısıyla bu durum gaz formundaki ozona, mikrobiyal inaktivasyon için kullanılabilen alternatif bir dezenfektan potansiyeli kazandırmaktadır.

Çizelge 1.2. Ozon ve diğer kimyasalların oksidasyon potansiyeli

<b>Kimyasallar</b>	<b>Bağlı oksidasyon potansiyelleri (eV)</b>
Flor	3.06
Hidroksil radikali	2.80
<b>Ozon*</b>	<b>2.07*</b>
Hidrojen peroksit	1.77
Hipokloröz asit	1.49
Klor	1.36

Su formundaki ozon, endüstri tarafından içme suyunun, kanalizasyonun arıtılmasında, gıda işleme ekipmanlarının mikrobiyal dekontaminasyonunda ve gıdanın kendisinin arıtılmasında kullanılmıştır. Sulu ozon üretmek için gaz halindeki ozonun sıvı bir ortamda çözülmesi gerekir. Gazların sıvı bir ortamdaki çözünürlüğü, belirli bir sıcaklıkta sıvı içinde çözünen gaz miktarının sıvı ortam üzerindeki gaz basıncıyla orantılı olduğunu belirten Henry Yasası ile tanımlanır. Ozon çözünürlüğü, birçok araştırmacı tarafından bildirildiği gibi birçok değişkenden etkilenir. Suda ozon, nitrojen ve oksijenden daha fazla çözünürken, karbondioksit ve klordan daha az çözünür. Ozon çözünürlüğünü etkileyen temel koşullar aşağıdaki gibi sınıflandırılabilir.

- Suyun sıcaklığı
- Sıvı ortamın organik ve inorganik içeriği

- Ortamın pH'ı
- Suda oluşan gaz halindeki ozon kabarcıklarının boyutu

Ozon, düşük sıcaklıklarda yüksek sıcaklıklarda olduğundan daha fazla suda çözünür (Yesil vd., 2012). Su sıcaklığının bir fonksiyonu olarak ozonun çözünürlüğündeki değişiklikler Çizelge 1.3'te verilmiştir (Ullmann, 2005).

Çizelge 1.3. Ozonun farklı sıcaklıklarda suda çözünürlüğü

Sıcaklık (°C)	Suda ozon çözünürlüğü ( kg/m <sup>3</sup> )
0	1.09
10	0.78
20	0.57
30	0.4
40	0.27
50	0.19
60	0.14

Ozon jeneratörlerinin büyük ve maliyetli olmasından dolayı geçmişte yapılan ozon uygulamaları, bazı endüstrilerde sınırlı kullanım imkanı sunmuştur (Jaksch vd., 2004). Fakat günümüzde teknoloji ve mekanizasyonda yaşanan gelişmeler sayesinde ozon jeneratörlerinin daha küçük boyutlarda üretilebilmesi ile birlikte kullanım alanları da artmaktadır. Özellikle insanların gıda güvenliği ve kalitesi gibi konular hakkında giderek bilinçlenmesi, gıda ve insan sağlığı ile ilişkili olan birçok endüstriyi ozon gibi kalıntı bırakmayan dezenfeksiyon uygulamalarına yöneltmiştir (Çelik, 2019).

Taze tüketime hazır ürünlerdeki mikrobiyal kontaminasyondan kaynaklanan bozulmalar, genellikle fiziksel görünüm, doku ve lezzet gibi kalitenin özelliklerini olumsuz etkilemektedir. Aynı zamanda bu durum besin kalitesinin korunmasını amaçlayan hasat sonrası kalite yönetimi ile de yakından ilişkilidir. Hasat sonrası kalite yönetimi sırasında, sıcaklık, bağıl nem ve depolama süresi gibi faktörler de dahil olmak üzere uygun ürün işleme ve uygun çevresel koşulların sağlanması ayrıca önem taşımaktadır (Kader ve Rolle, 2004).

Herhangi bir patojenik veya bozulmaya neden olan bakteri kontaminasyonunu önlemek için, tüketime hazır gıdalar ekstra özenle hazırlanmalıdır. Bu amaçla

alınabilecek önlemler radyasyon, kimyasal işlem, ısıtma işlemi, biyo-kontrol ajanları ve modifiye veya kontrollü atmosfer koşullarında depolamaya yönelik uygulamaları kapsamaktadır (Koseki vd., 2002). Bu uygulamaların gerçekleştirilmesine rağmen bazı nedenlerden dolayı istenilmeyen bakterilerin bir kısmı canlılığını devam ettirebilir (Alexopoulos vd., 2013). Bahsedilen bakterilerin canlı kalmalarının sebeplerinin başında uygulanan işlemlerin meyve sebze gibi ürünlerin stomaları, yaprakları ve diğer iç boşluklarında bulunan bakteriler üzerinde yetersiz kalabileceği düşünülmektedir. Dolayısıyla ürünlerin bahsedilen kısımlarında bulunan bakteriler, bu koşullarda sanitasyon işlemlerinden ve/veya antimikrobiyal amaçlı uygulanan diğer işlemlerden korunmaktadır (Saldaña vd., 2011). Aynı zamanda bu tür bakterilerin canlı kalmasında, meyve sebzelerin yüzeylerinde bulunan biyofilm yapılarının da katkısının olabileceği belirtilmektedir. Gıda ve gıda işleme yüzeylerinde bakteriyel biyofilmlerin bulunduğu çeşitli çalışmalarda gözlemlenmiştir ve bu durumun ürün kalitesi ve gıda güvenliği riskini artırabileceği kaydedilmiştir (van Gennip vd., 2012). Biyofilm oluşturma özelliği olan bazı bakteriler için, oluşan bu biyofilm yapı, bakterileri antimikrobiyal ajanlara ve su stresi gibi olumsuz ortamlara karşı koruyucu bir kalkan olarak koruma özelliğindedir. Bu nedenle, bakterilerin yerleşim yerlerinin ve biyofilmlerin, yıkama ve sanitasyon prosedürlerinin etkinliğini etkilemedeki olası rolünün tam olarak anlaşılmasının araştırılması gerekmektedir.

Ayrıca, taze tüketime hazır gıda veya salatalarda bulunan mikroorganizma çeşitliliği ve özellikleri değişkenlik gösterebilmektedir (Tournas, 2005b, 2005a). Dolayısıyla taşıma, nakliye ve depolama koşullarındaki değişiklikler, mikroorganizmaların inaktivasyonu üzerinde önemli düzeyde etkili olmaktadır.

Taze tüketime hazır ürünlerin tedarik zinciri boyunca, satın alınmadan, yenmeden veya muhafaza edilmeden önce bir dizi paketleme işlemi (kırpma, sınıflandırma, yıkama ve paketleme) ile beraber fabrikadan depoya veya perakendeci tesislerine nakliye, perakende tesislerinde teşhir ve depolama gibi diğer uygulamalar yer almaktadır. Müşteriler tarafından daha sonra kullanılmak üzere tedarik zincirindeki belirli aşamalarda, ürün bir dereceye kadar uygun olmayan sıcaklık derecelerine maruz kalabilir. İdeal olarak, ürünler sürekli bir soğuk zincir ortamında (genellikle 4 °C civarında) tutulmalıdır, ancak bu her zaman mümkün değildir. Daha yüksek

sıcaklıklara maruz kalma, ürünün raf ömrünü kısaltır ve kalitesini düşürür. Kalitedeki azalma normalde fiziksel görünümdeki değişiklikler olarak görülür ve değişikliklere mikrobiyal yüklerde bir artış, besin kalitesinde azalma ve faydalı fitokimyasal içeriklerin azalması ve kötü kokulu uçucu maddelerin salınımı eşlik eder (Bell vd., 2017).

Taze ürünler, gıda kaynaklı hastalık salgınlarının en yüksek sayısından sorumlu olmaya devam etmektedir. Çoğu durumda, kontaminasyon işleme ortamına getirilir ve ardından farklı partilere yayılır. Hasat öncesi kontrollerin sınırlaması göz önüne alındığında, etkili hasat sonrası dekontaminasyon müdahalelerine ihtiyaç vardır. Hasat sonrası yıkama bir müdahale olarak görülse de, dezenfektan konsantrasyonları korunmazsa, işlemin daha sonra çapraz kontaminasyon riskinin artmasıyla sınırlı bir etkinliğe sahip olduğu bulunmuştur. Hasat sonrası yıkamanın sınırlamaları ve risk önleme ve kontrol adımlarını uygulama ihtiyacı ile alternatif dekontaminasyon yöntemlerine ilgi duyulmuştur. Bu bağlamda, ışınlama, ozon, klor dioksite dayanan ve umut vaat eden çeşitli yöntemler mevcuttur. Buna karşılık, UV, darbeli ışık ve gaz plazma, sınırlı dekontaminasyon etkinliği ve/veya ticari ölçekte uygulamada pratikliği nedeniyle sınırlı bir fayda bulabilir. Alternatif müdahaleler, çoğu işleme hattının çalıştırdığı yüksek iş hacminin yanı sıra maliyeti takdir etmeye ihtiyaç duyacaktır. Ayrıca, meyve ve sebze türlerine daha uygun olan belirli müdahalelerle tek bir teknolojinin taze ürünlerin tüm çeşitlerinin doğasına uymayacağını belirtmek de önemli olacaktır. Hedef patojenler, özellikle taze ürünlerle ilgili salgınlarda sıklıkla yer alan insan parazitleriyle ilgili olarak da dikkate alınmalıdır. Bu bağlamda, alternatif teknolojilerin, tipik olarak vejetatif bakteriyel patojenlerden daha dirençli olan insan parazitlerini etkisiz hale getirmedeki etkinliği konusunda bir bilgi boşluğu vardır. Gıda kaynaklı patojenleri kontrol etmek için hasat sonrası yıkamayı içeren bir müdahale kombinasyonu, bir engel konseptinde uygulanmalıdır. Birden fazla engelin uygulanmasıyla, ürünün duyu kalitesi üzerinde önemli zararlı etkiler olmaksızın sinerjik bir antimikrobiyal etkinin elde edilmesi muhtemeldir (Murray vd., 2017).

Son yıllarda tüketiciler, taze meyve ve sebzelerin düzenli tüketiminin sağlık sorunları ve hastalık riskini azaltan besinsel faydalarının giderek daha fazla farkına varmışlardır. Asgari düzeyde işlenmiş ürünler son derece bozulabilir ve kalite bozulmasına karşı hassas olduğundan, yüksek kaliteli hammaddeler önemlidir. Bitki

doku yüzeylerinde meydana gelen biyokimyasal, duyuşal ve mikrobiyal değişikliklerin yanı sıra kesme, soyma, temizleme ve paketleme işlemleri ürün bozulmasını hızlandırabilir. Bu bağlamda, enfeksiyöz organizmalar doğrudan hammaddeleri kirlettiğinde ve/veya yıkama gibi gıda hazırlama süreçleri sırasında meydana gelen çapraz bulaşma yoluyla ortaya çıkan biyolojik kontaminasyon birincil olabilir. Taze kesilmiş ürünlerin raf ömrünü uzatmak için mevcut birçok teknoloji arasında ozon teknolojisinin oldukça etkili bir sterilizasyon tekniği olduğu kanıtlanmıştır (Botondi vd., 2021).

Ozonun meyve ve sebzeler üzerinde olan uygulamaları üç farklı şekilde yapılabilmektedir. Söz konusu uygulamalar, yüzeylerinden meydana gelebilecek mikrobiyal bulaşmaları önlemeye yönelik uygulamalar, muhafaza edildikleri depolara olan uygulamalar ve meyve ve sebzelerin ambalaj içi atmosferine olan uygulamalar şeklinde gerçekleştirilmektedir.

Aynı zamanda alkollü içkilerin yapay olarak olgunlaştırılması ve biraların mikrobiyal yükünün azaltılması gibi farklı uygulamalarda ozondan yararlanılmaktadır (Jin-Gab Kim, 1995).

Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliğine göre salata ve yeşillikler de *Escherichia coli*, *Salmonella spp.* ve *Listeria monocytogenes* hiç bulunmamalıdır. Tarladan ve satıcıdan otele gelen yeşillikler otellerde kullanım öncesi uygun bir dezenfeksiyon sistemi ile mikrobiyal yükünün ortadan kaldırılması veya minimum seviyeye indirilmesi amaçlanmaktadır.

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

Tez konusu ile ilgili ulusal ve uluslararası yayınlar incelendiğinde yapılan çalışmalarda ozonun dezenfeksiyon işlemlerinde kullanıldığı görülmektedir. Ancak turizm tesislerinden numuneler alınarak yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır. Ayrıca yapılan çalışmalarda hep deneysel olarak hazırlanmış numuneler çalışılmış, işletmelerin ozonlama çalışmalarını yaparken etkileyen diğer faktörler hesaba katılmamıştır. Bir turizm tesisinde veya gıda işletmesinde meyve sebze ozonlanırken ortamın durumu, kullanılan bıçak, kesme tahtası, personel hijyeni gibi kontaminasyon kaynaklarının yapılan ozonlama işleminde ne gibi etkileri olacağı göz önünde bulundurulmamıştır.

Bilimsel çalışmalar ozonun etkili olduğunu göstermektedir ancak uygulamada restoran, otel gibi yerlerde tüketime hazır hale getirilmiş meyve sebzelerin mikrobiyal durumu incelenmemiştir. Bu durum araştırmacıların farklı sektörlerdeki uygulamaların etkinliğini incelemek için çalışmalar yapmaya yönlendirmiştir.

Turizm tesislerinde gıda zehirlenmelerinde başrol oynayan, çiğ meyve ve sebze dezenfeksiyonu kritik rol oynamaktadır. Bu sebeple dezenfeksiyon işleminde kullanılan ozonun, ne kadar süre ile hangi miktarda uygulanması gerektiği çok önem taşımaktadır. Tezin amacı ozonlama da doğru süre ve dozu seçmeye, nasıl uygulanacağına yöneliktir.

Turizm cenneti olan ülkemiz 2019 yılında 51.860.042 turist misafir etmiştir (TUİK, 2020). Turizm sektöründe konaklama ve konaklama hizmetlerinin yanı sıra, yiye-içme hizmetlerinde gıda güvenliği, gıda güvencesi ve kalitesi de önem taşımaktadır (Bulgan ve Dolmacı, 2018).

Meyve, sebzelerin depolanmasında, mikrobiyal faaliyetleri önlemek, gıdaların raf ömrünü arttırmak, içme suyu ve ortam havasının dezenfeksiyonunda, çiğ kanatlı etlerin ve kesimhane alet ekipmanlarının sterilizasyonunda gaz formunda ozon kullanılmaktadır. Bunlara ilaveten, endüstriyel atıkların arıtılmasında, tahıllarda, yemlerde mikrobiyal faaliyetlere ve haşerelere karşı dezenfektan olarak

kullanılmasının yanı sıra, un, kağıt ve parfüm sanayisinde de ozon kullanılmaktadır (Remondino ve Valdenassi, 2018).

Turizm tesislerinde gıda güvenliğini üst seviyeye çıkarmak önemlidir. Tüketime hazır ürünün minimum risk taşınması, başta kendi sağlığımız ve gelen turistlerin sağlığını güvence altına almak, gıda bozulmalarını engellemek, turizm tesislerinin maruz kaldığı reklamasyonların, müşteri şikayetlerinin ve davaların azaltılmasını sağlamak ülkemizin turizm imajı için önem taşımaktadır. Bu çalışma ile birlikte turizm tesislerinin kar kayıplarını ve oluşabilecek kötü imajı önlemeye, işletme yetkilisi ile beraber sorumlu yönetici olarak çalışan kişinin 5996 sayılı Gıda Yem Kanunu'na göre karşılaşılabileceği cezalar ve cezai ödemeleri almamalarına adına çalışmalar yapılmıştır.

Meyve ve sebze sektöründe, çiğ kırmızı ve kanatlı beyaz et endüstrisinde, kuru gıda ürünlerinde ve gıda ambalajlama teknolojilerinde yapılan ozon uygulamaları aynı zamanda gıda endüstrisinde ortaya çıkan atık suların yeniden değerlendirilmesinde, yüzey ve ortam hijyeninde, alet ve ekipmanların dezenfeksiyonu gibi çeşitli amaçlarla gıda sektörlerinde değerlendirilmektedir (Ekici vd., 2006).

Muştu (2020), tarafından yapılan çalışmaya göre, Gıdalar üzerine güçlü bir oksidan ve dezenfeksiyon maddesi olan ozon, toksik olmayan parçalanma ürünlerine dönüşmekte ve oksidasyon yolu ile diğer dezenfektanlara göre daha geniş bir spektrumda antimikrobiyel aktivite göstermektedir. Yiyecek ve içecek işletmelerinde özellikle meyve ve sebzelerde mikrobiyal kirliliğin giderilmesinde ozonun kullanılıp başarılı sonuçlar elde edildiği görülmektedir. Bunların yanı sıra et ve et ürünleri, su ürünleri, yumurta, tahıl ve tahıllardan elde edilen ürünlerin işlenmesinde, gıda ile temas eden yüzey ve ekipmanlar ile içme suyunun dezenfekte edilmesinde, güvenli depolamada da kullanıldığı ancak yeterli çalışma bulunmadığı görülmektedir.

Tümay (2019), tarafından yapılan bir çalışmada 2, 5 ve 10 ppm konsantrasyonunda ozon ile yıkama suyuna 5,10, 15 dk sürelerle ozonlama işlemi gerçekleştirilmiştir. Muameleye tabi tutulan ayıklanıp doğranmış marul, iceberg marul, ıspanak ve lahana sebzelerinde *E.coli*, *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *S. typhimurium* ve *B. cereus* bakterilerinde yükte bir azalma meydana gelmiştir. Uygulama süresi ve ozon

konsantrasyonu arttıkça, örneklerdeki mikroorganizma sayısı zamana bağlı olarak azalmıştır. Ozonlu hava ile beslenen suda bekletme işlemlerinde en yüksek mikrobiyal inaktivasyon 10 ppm konsantrasyonunda başlangıç yüküne göre 15 dk'lık uygulamalarda belirlenmiştir. Buna göre en yüksek mikroorganizma sayısındaki azalma oranı *L.monocytogenes* için lahanada 0,46 log kob/ml; *S.aureus* için lahanada 0,32 log kob/ml; *E. coli* O157:H7 için ıspanakda 0,65 log kob/ml; *S. typhimurium* için marulda 0,15 log kob/ml; *B. cereus* için iceberg marulda 0,47 log kob/ ml olarak tespit edilmiştir.

Meyve ve sebzelerin yüzeyinden meydana gelen kontaminasyonları baskılamak veya engellemek amacıyla yapılan çalışmaların genelinde ozonlu su kullanılmaktadır. Ozonlu suyun kullanıldığı çalışmaların birinde çilek ve üzüm meyveleri ozonlu suya daldırılmaktadır. Bulunan sonuçlar çilekteki küfleri, mayaları ve aerobik mezofilik bakterileri ve üzümdeki gri küfleri azalttığı görülmüştür ancak gri küflerin kontrolünde bir düzensizlik olduğu söylenmiştir (Çatal ve İbanoğlu, 2010).

Taze ürün endüstrisi, artan tüketici talebinin bir sonucu olarak sürekli büyümektedir. Gıda kalitesi ve güvenliği yönetimi, tedarik zinciri için hala önemli konulardır. Ozon kullanımı, gıdalarda bulunan mikroorganizmaları azaltmak ve bu şekilde taze ürünlerin raf ömrünü uzatmak için uygun bir çözüm olarak tanımlanmıştır. Ozon tedavisinin etkinliğini etkileyebilecek bir dizi faktör tanımlanmıştır, örn. mikrobiyal popülasyonlar, ozon konsantrasyonu ve maruz kalma süresi, ürün türü, sıcaklık, bağıl nem ve ambalaj malzemesi bunlardan bazılarıdır (Glowacz ve Rees, 2016).

Ozonun, klorun oksitleme potansiyelinin 1.5 katı ve hipokloröz asidin 3000 katı potansiyeli olduğu bildirilmektedir. Antimikrobiyal etki için temas süreleri, klor için olanlardan tipik olarak 4 ila 5 kat daha azdır. ozon bakteri hücre duvarlarına hızla saldırır ve pratik ve güvenli konsantrasyonlarda bitki patojenlerinin ve hayvan parazitlerinin kalın duvarlı sporlarına karşı klordan daha etkilidir (Suslow, 2004).

Ozonun çok yönlülüğü – hem güçlü bir dezenfektan hem de gaz ve/veya sıvı fazlarda uygulanabilen güçlü bir oksitleyici olması, artı temel temizliği ve olumsuz çevresel etkilerinin olmaması, tarım ve gıda işleme endüstrilerinde birçok iş çok uygun olduğu anlamına gelir. Gaz fazında, bu çok yönlü kimyasal, birçok tarım ürününün

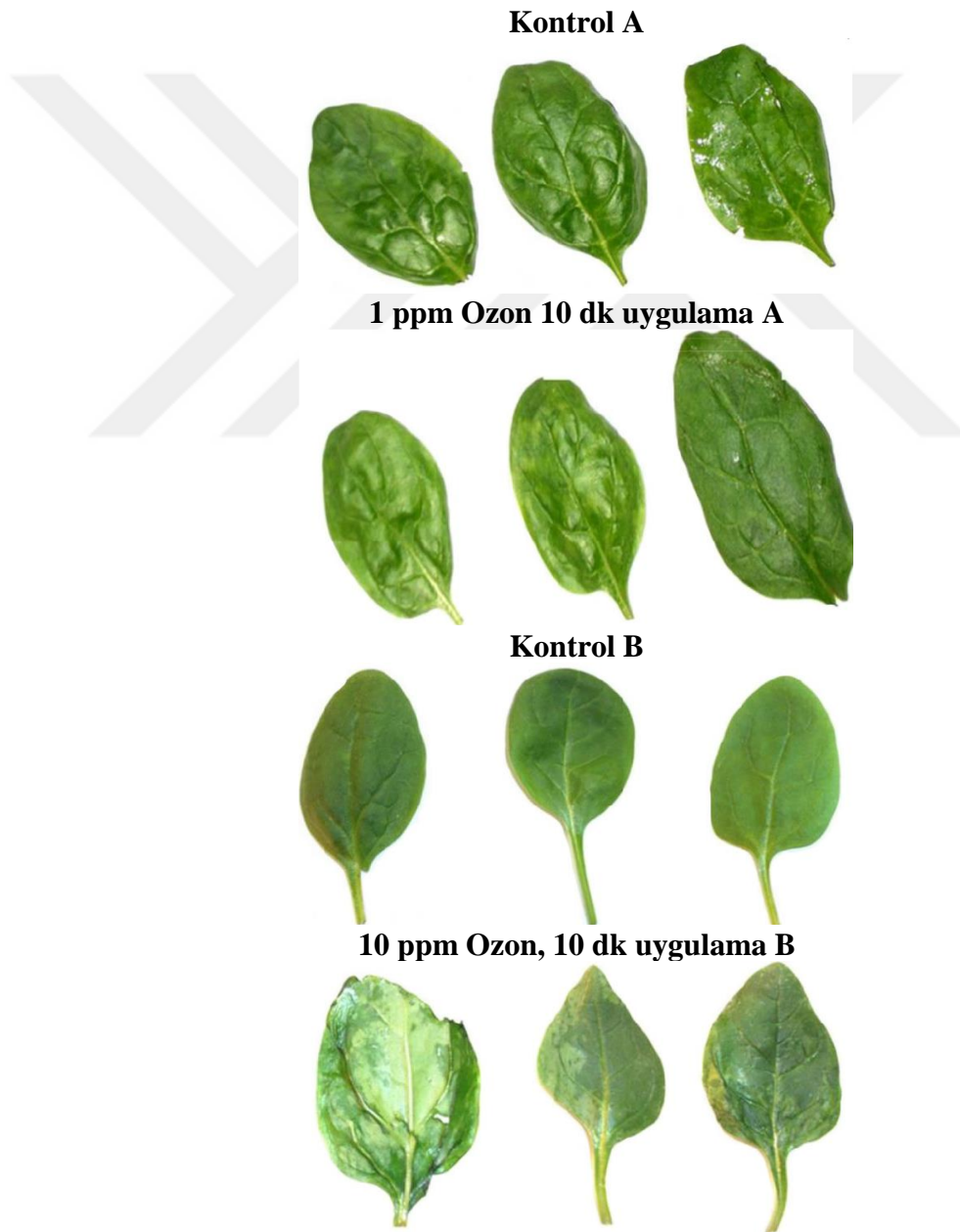
(meyve, sebze, et, kümes hayvanları vb.) işlenmesi, paketlenmesi ve depolanması için bir atmosfer sağlayabilir, böylece bozulmaya neden olan mikroorganizmaların çoğalmasını en aza indirir ve birçok küf ve kokuyu kontrol eder. Sulu fazda uygulandığında ozon, tesise giren suyu, geri dönüştürülmüş proses suyunu ve atık suları arıtmak için kullanılabilir. Ozonun sudaki sulu çözeltileri ticari olarak birçok farklı tarım ve gıda ürününün spreyle yıkanmasında ve işleme ekipmanlarının sterilize edilmesinde ve tesis yıkamalarında kullanılmaktadır. Ultraviyole radyasyon ve elektrolize su ile birleştirildiğinde, ozon, üretimi artan tarımsal ürünlere pestisit ve böcek ilacı spreylemelerinin değiştirilmesi için yeni bir teknik sağlar. Ozon artı UV radyasyonu, elektrolize su ve ultrason, gıdaların işleme ve paketlenme sırasında sterilizasyonuna yakın bir şekilde izin verir, böylece taze ve/veya işlenmiş gıdaların raf ömürlerinde önemli artışlar sağlar (Rice, 2010).

Belirli bir konsantrasyondaki ozonlu su ile doğranmış marullar yıkanmış ve toplam aerobik mezofil bakteri sayısında 2 log kob/g azalma olduğu saptanmıştır. Aynı konsantrasyon ve uygulama süresiyle lahanalar üzerinde yapılan ozon uygulaması ile toplam bakteri sayısında %90'ı geçen azalma sağlandığı bildirilmiştir (Ekici vd., 2006).

Ette rastlanan bozuklukların temel kaynakları enzimler, mikrobiyal aktivite ve yağ oksidasyonudur. Hayvanı kesme, derisini soyma ve doğrama gibi işlemler sırasında hayvandan ve bağırsağından gelen mikroorganizmalar, bıçaktan, işçiden, aletlerden, havadan ve benzeri şeylerden gelen mikroorganizmalarla çeşitlilik kazanmaktadır. Kırmızı ve beyaz ette üreyen mikroorganizmaları engellemek, atık suları dezenfekte etmek , kesim işleminde kullanılan bıçakları dezenfekte etmek için alternatif bir yol olarak ozon uygulamaları denenmektedir. Bu çalışmalarda uygulanan ozonlama sonucunda *Bacillus*, *Salmonella*, *Escherichia coli*, aerobik bakteriler, toplam koliform, gram-negatif rod gibi birçok mikroorganizmanın inaktive edildiği veya sayılarında ciddi bir azalma olduğu görülmektedir. Ozonlama süresi arttırılıp, pH ve sıcaklık düşürüldüğünde daha etkili bir inaktivasyon sağlandığı, ayrıca ozonun lipid oksidasyonunu kolaylaştırdığı fakat duyuşsal karakteristiğini değiştirmediği, karkasın rengini kaybettirmediği ve istenmeyen koku üretmediği, raf ömrünü ise uzattığı anlaşılmaktadır. Bunun yanısıra UV fotonları ozonlamanın etkilerini arttırmaya yardımcı olmak için kullanılmaktadır. (Çatal ve İbanoğlu, 2010)

Bilindiği gibi dezenfeksiyon sırasında kullanılan maddeye bağlı olarak renksizleşme denilen bir sorun ortaya çıkabilmektedir. Bu konuyla alakalı ozonunda doğru dozajda kullanımının renksizleşmeye neden olmadığı bildirilmiştir. Bu konuyla ilgili çalışmada 0.5-5 mg/L ozonlu su kullanılarak taze meyve ve sebzeler dezenfekte edilmiş ve renksizleşmeye neden olmadığı ve etkili olduğu gözlemlenmiştir (Çatal ve İbanoğlu, 2010).

Ozon uygulamasının ıspanağın görsel kalitesi üzerindeki etkisi Şekil 2.1'de gösterilmektedir.



Şekil 2.1. Ozon uygulamasının ıspanağın görsel kalitesi üzerindeki etkisi

(A): 10 dakika boyunca 1 ppm ozon konsantrasyonunda uygulama yapıldığında ozon maruziyet seviyelerinin ıspanağın görsel kalitesi üzerindeki etkisi, (B): 10 dakika boyunca 10 ppm ozon konsantrasyonu uygulandığında ıspanakta ozon hasarı/görsel bozulma şekli. Wani vd. (2015) tarafından yapılan bu çalışmada yapraklı ürünlerin görsel görünümü ve tazeliği, satın alma veya satın alma sırasında kalite ayrımı için ana değerlendirme kriteri olmuştur. Ispanak 1 ppm gazlı ozonla muamele edildiğinde görsel ozon hasarı gözlemlenmemiştir, ancak daha yüksek seviyeler, örneğin 10 dakika boyunca 10 ppm, ıspanakta önemli görsel kusurlara ve renk bozulmasına neden olmuştur. Benzer ozon konsantrasyonları uygulandıklarında marul, ıspanak ve roka yaprakları gibi taze ürünlerde daha önce benzer sonuçlar gözlemlenmiştir. 10 dakika boyunca 10 ppm ozon konsantrasyonuna maruz kaldığında ıspanakta ozon hasarını/görsel hasarı şekil 2.1'De görülmektedir. Ozon işleminin yapraklı ürünün kalitesi üzerindeki etkisinin konsantrasyona bağlı olduğu açıktır; belirli bir seviyeye kadar ozon uygulamak faydalı olabilirken kritik bir seviyeden sonra esmerleşme tepkilerinin hızlanması kalitenin düşmesine neden olacaktır. Ispanak 10, 15 ve 20 ppm ozon gibi daha yüksek konsantrasyonlara daha kısa sürelerle maruz bırakıldığında görsel ozon hasarı gözlemlenmemiştir. Yedi günlük depolamadan sonra ozonla işlem görmüş ürünler görsel olarak işlenmemiş ürünler (kontrol) kadar taze ve çekici görünmektedir. İncelenen tüm süreler için (30 s, 45 s ve 2 dak) 25 ppm ozon konsantrasyonuna maruz kaldığında ıspanakta ozon hasarı/görünür hasar gözlemlenmiştir.

Yapılan çalışmalarda ayrıca ozon uygulaması ile havuç ve maruldaki *E. coli* O157:H7 bakterisinin hücre yoğunluğunda 0.79-2.69 log düzeyinde bir azalma olduğu gözlemlenmiştir (Skog ve Chu, 2001).

Ayrıca ozon ile muamele edilmiş çileklerde şeker ve askorbik asit içeriği bakımından önemli farklar bulunmuştur. Ozonlanmış çileklerin soğuk depolamadan sonra C vitamini içeriği kontrol edilen meyveleri 3 katı çıktığı kaydedilmiştir. Bunların yanı sıra ozon ile muamelenin çileğin aromasını bozduğu saptanmıştır (Souza vd., 2018).

Benzer çalışmaların birinde ise sofralık üzümün hasat sonrası bozulmaları bir çalışma yapılmıştır. Sofralık üzümler hasat edildikten hemen sonra laboratuvara getirilmiştir. *Rhizopus stolonifer* ile aşılanan örnekler 20 dakika boyunca 8

mg/dakika ozona maruz bırakılmaktadır. 20 dakikalık bir uygulama ile meyvenin yüzeyinde doğal olarak bulunan mantarların, mayaların ve bakterilerin çoğalmasını önemli ölçüde azalttığı kaydedilmiştir. Ozon uygulaması olmadan depolanan meyvelerin çürüme oranının daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca *Rhizopus* ile  $10^7$  ml<sup>-1</sup> düzeyinde aşılanan meyvelerde 30-40 dakikalık uygulama süresi ile tüm çürüme gidermenin mümkün olduğu belirtilmiştir. Ayrıca deneyin sonuçları arasında soğuk depolamada küflerin neden olduğu meyve çürümesi miktarını önemli ölçüde azalttığı da kaydedilmiştir. Ozonun hasat sonrası depolanan ürünlerde, bozulmalara sebep olan küflerin gelişmesine direnç gösterdiği gözlemlenmiştir. Araştırmadan çıkarılan sonuçlar ışığında yapılan yorumlardan bir diğeri ise gaz formunda ozonun üzümlerde *R. Stolonifer*'in neden olduğu depolamada meydana gelen bozulmaların kontrolünde fümigasyona alternatif olabileceği kaydedilmiştir (Sarig vd., 1996).

Sofralık üzümler ile yapılan bir başka bir çalışmada sofralık üzümlere *Botrytis cinerea* aşılansaktadır. Daha sonra üzüm örnekleri ozonlu gaz uygulamasına maruz bırakılmaktadır. Çalışmanın sonucunda üzümlerin kalite özelliklerinde önemli bir değişiklik görülmemiştir. Ancak 0,3 ppm gibi düşük konsantrasyonlarda yapılan uygulamanın mantarların neden olduğu çürümeyi önemli bir ölçüde kısıtladığı ve 40 günlük bir muhafaza süresi sağladığı kaydedilmiştir. Yapılan bu çalışmada soğuk depo ile birlikte 0,3 ppm gibi düşük dozajlarda ozonlama uygulamalarının sofralık üzümlerin muhafazası için umut verici bir yöntem olduğu bildirilmektedir (Artés-Hernández vd., 2004).

Ayrıca çeşitli araştırmalarda gıdaların yüzeyinde kontamine olmuş pestisitlerin musluk suyu ile yıkama sonrası kalan kalıntılarını azalttığı saptanmıştır (Pazır ve Turan, 2017).

Yapılan bir diğerk çalışmada kuru incirler üzerinde ozon gazı uygulaması yapılmıştır ve aflatoxin B1 miktarında değişim gözlemlenmiştir. Aflatoxin B1 miktarındaki zamana göre azalma 30. dakikada %48.76, 60. dakikada %72.42 ve 180. dakikada %95.25 olarak kaydedilmiştir. Sulu ortamda yapılan uygulamada ise 30. dakikada %0.82, 60. dakikada %83.25 ve 180. dakikada %88.66 olarak kaydedilmiştir. Sulu

ortamda yapılan uygulamanın 30. dakikasındaki azalmanın önemsizken, 60 ve 180. dakikalardaki azalmanın önemli olduğu görülmüştür (Wang vd., 2016).

Yapılan bir çalışmada marulun mikrobiyolojik ve duyuşal özellikleri üzerindeki klor ile birlikte ozonun etkinliğini ve ayrıca ticari marul salatası işlemek için kullanılan suyun kalitesi belirlenmiştir. Iceberg marul, bozulan maruldan izole edilen 8.0 log düzeyinde mikroorganizmalar ile aşılınmış, klor ve ozon kombinasyonları ile muamele edilmiş ve mikrobiyolojik olarak analiz edilmiştir. Klor, ozon veya bir karışımla durulanan ticari salatalar duyuşal kabul için değerlendirilmiştir. Klor, ozon ve klor-ozon, aerobik mezofilik bakteri sayısını sırasıyla 1.4, 1.1 ve 2.5 log'a kadar azaltmıştır. Klor, ozon veya bunların bir kombinasyonu ile muamele edilen ticari marul salatalarının raf ömrü sırasıyla 16, 20 veya 25 gün olarak tespit edilmiştir. Ticari marul salataları için bir ozon-klor veya ozon durulama kullanıldığında, proses suyunda görünür bir bulanıklık değişikliği olmamıştır. Suyun kalitesi daha uzun süreler boyunca sabit kalmış ve bu da onu daha uzun süre yeniden kullanıma uygun hale getirmiştir. Bu nedenle klor-ozon kombinasyonların marul salatalarının raf ömrü ve kalitesi ile marulu durulamak veya temizlemek için kullanılan su üzerinde faydalı etkileri olmuştur (Garcia vd., 2003).

Tüketime hazır salata, çeşitli antibiyotik direnç genleri (ARG'ler) taşıyabilen mikroorganizmaları barındırır. Ancak, salatadaki ARG'lerin yaygınlığına odaklanan çok az çalışma vardır, bu nedenle ARG'lerin salatadan tüketicilere geçme riskini hafife alınmaktadır. Bu küçük ölçekli çalışmada, iki restoran türünden, fast food zincirinden ve bağımsız gündelik yemekten kaynaklanan salata servisiyle ilişkili ARG'lerin varlığını, yaygınlığını ve bolluğunu araştırmak için yüksek verimli nicel PCR kullanılmıştır. Değerlendirilen salata ürünlerinde toplam 156 benzersiz ARG ve dokuz mobil genetik element (MGE) tespit edilmiştir. ARG'lerin ve MGE'lerin bolluğu, bağımsız gündelik yemek yeme mekanlarında, fast food zinciri restoranlarından önemli ölçüde daha yüksek çıkmıştır. ARG'lerin salatadaki mutlak kopyaları, fast food ve yemek restoranlarında sırasıyla salata başına  $1,34 \times 10^7$  ila  $2,71 \times 10^8$  ve  $1,90 \times 10^8$  ila  $4,87 \times 10^8$  kopya idi. *Proteobacteria*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* ve *Firmicutes*, salata örneklerinden tespit edilen baskın bakteri cinsleridir. *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Exiguobacterium*, *Weissella*, *Enterobacter*, *Leuconostoc*, *Pantoea*, *Serratia*, *Erwinia* ve *Ewingella*, salata örneklerinde bulunan

en baskın 10 bakteri cinsidir. ARG'ler ve MGE'ler arasında anlamlı bir pozitif korelasyon tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, yemeye hazır salatadaki ARG'ler hakkındaki bilgileri bütünleştirir ve ARG'lerin tüketicilere aktarılmasının potansiyel etkisini vurgulamaktadır (Zhou vd., 2020).

Özellikle gaz formunda ozon elmanın mikrobiyal bozulmasını ve ağırlık kaybını azaltmıştır. Ozonla muamele edilen soğanlar, kimyasal bileşimlerinde herhangi bir değişiklik olmaksızın küf ve bakteri sayımlarının büyük ölçüde azaldığını göstermiştir. Domateslere yapılan ozon uygulamaları yer fıstığına uygulandığında rengini, şeker içeriğini, asitliğini ve antioksidan kapasitesini etkilemezken aflatoksin miktarını azaltmıştır. Ozon ile muamele edilen kırmızı biber, çilek ve tere mikrobiyolojik popülasyonda azalma göstermiştir. Diğer birçok örneğe ek olarak, ananas ve muzların fenolik ve flavonoid içeriğinin, ozona 20 dakikaya kadar maruz kaldıklarında kontrol çalışmasına göre önemli ölçüde arttığı bildirilmektedir. Ozon kullanımındaki sınırlamalar göz önünde bulundurulduğunda, ozonun oldukça kararsız ve koroziv bir gaz olduğu ve kısa ömrü nedeniyle depolanmasının mümkün olmadığı için yerinde üretilmesi gerektiği belirtilmiştir (Carletti vd., 2013).

Dielektrik Bariyer Deşarj (DBD) ozon bazlı, geleneksel gıda işleme teknolojilerinde termal olmayan, katkı maddesi içermeyen ve çevre dostu çekici bir alternatif yöntemdir. Pratik uygulaması, ekonomik ozon üretimine ve optimum ozon dozajına bağlıdır. Yapılan çalışmada, bozulmamış yeşil fasulye, üzüm, marul, çilek ve domates kombinasyonlarından hazırlanan ve inoküle edilen mikroorganizmalar için kompakt (48 cu. cm), hafif (55 g), düşük güç, düşük sıcaklık, DBD ozon jeneratörünün tek seferlik ve periyodik uygulamasını araştırılmıştır. DBD jeneratörü tarafından 3 dakika ve 15 dakika boyunca üretilen 126-136 ppm ortalama ozon konsantrasyonuna bir kerelik maruz kalma, bozulma aşısında bulunan mikrobiyal kolonilerde sırasıyla en az 1 ve 4 log azalma sağlamıştır. Benzer koşullar altında 3 dakika boyunca 128.7 ppm ortalama ozon konsantrasyonuna günlük maruz kalma, periyodik maruz bırakma yoluyla inhibisyonun, mikrobiyal kolonilerde en az 5 log azalma ile hem bakteri hem de küf türlerinin büyümesini başarıyla engelleyebileceğini göstermiştir. Benzer şekilde 3 dakikalık günlük uygulamayla bütün meyve ve sebzelerin görsel olarak incelenmesi, ozon uygulamasının gıda

ürünlerinin raf ömrünü en az ikiye katlama potansiyelini göstermiştir. (Roy vd., 2021).

Ozonun sulu çözelti uygulamasında mikrobiyal inaktivasyon üzerindeki etkinliği, mikroorganizma/gıda üç kombinasyonu ile incelenmiştir: *Listeria innocua*/kırmızı dolmalık biber (yapay olarak inoküle edilmiş), toplam mezofiller/çilek ve toplam koliformlar/su teresi, iki konsantrasyonda uygulanmıştır (0,3 ve 2,0 ppm). Olası sinerjik etkileri incelemek için ısıl işlemler (50-60 °C) tek ve ozon ile kombinasyon halinde uygulanmıştır. Ozon işlemleriyle ilgili olarak, en yüksek işlem süresi (3 dakika) ile en yüksek konsantrasyon için en yüksek mikrobiyal azalmalar elde edilmiştir. Bu koşullar altında, *L. innocua*/biber, toplam mezofil/çilek ve toplam koliform/su teresi sırasıyla  $2,8 \pm 0,5$ ,  $2,3 \pm 0,4$  ve  $1,7 \pm 0,4$  log azalma elde edilmiştir. Bununla birlikte, mikrobiyal popülasyonların önemli bir kısmı sadece suyla yıkama ile azalmış ve ozonun varlığı genellikle 0.5-1.0 log ek bir azalma sağlamıştır (Alexandre vd., 2011).

6 günlük depolama sırasında marul ve lahanadaki mikrobiyolojik değişiklikler üzerinde sitrik asit çözeltisi ve ozonlu su ile kimyasal uygulamasının etkileri incelenmiştir. Taze marul ve lahanalar örnekleri küçük parçalar halinde kesilmiş ve 3 ppm ozonlu su ya da %1'lik sitrik asit çözeltisi içinde muamele edilmiştir. Uygulamadan sonra 6 gün depolanan marul ve lahananın toplam bakteri, maya ve küf ve *Escherichia coli* popülasyonları belirlenmiştir. 6 gün depolama sırasında mikroorganizmaların sayısı artmış, ancak ozonlanmış su ve sitrik asit uygulamaları mikrobiyal floradaki artış oranını geciktirmiştir. Uygulamalar arasında %1 sitrik asit uygulaması mikrobiyolojik değişim ve inhibisyon açısından 1.5 log CFU/g ile en etkili ve polifenoloksidaz aktivitesini %80 oranında inhibe etmiştir. Bu sonuç, kimyasal işlem görmüş marul ve lahananın, depolama sırasında kontrole göre daha iyi bir kaliteye sahip olduğunu göstermektedir. Sonuç olarak, kimyasal işlem mikroorganizma sayısını önemli ölçüde azaltmış ve mikrobiyal büyümeyi kontrol etme ve taze kesilmiş sebzelerin esmerleşmesini önleme açısından taze marul ve lahanalar kalitesini korumada etkili olmuştur. Özellikle sitrik asit tedavisi ozon tedavisine göre daha iyi sonuç vermiştir. (Youm vd., 2004).

Klorlu, ozonlu ve musluk suyu uygulanarak yapılan farklı yıkama işlemlerinin, minimum düzeyde işlenmiş iceberg marulunun (*Lactuca sativa L.*) tüketici boyutundaki torbalarda 4 °C' de 9 güne kadar saklama sırasında fenolik metabolizması üzerindeki etkileri incelenmiştir. Hammadde homojensizliği ile ilgili sorunları ortadan kaldırmak için, endüstriyel uygulamanın çalışma koşulları altında pilot tesis ölçeğinde işleme gerçekleştirilmiştir. Farklı marul yaprağı dokularının neden olduğu doğal ürün heterojenliği, büyük boyutlu numunelerin bir araya toplanmasıyla telafi edilmiştir. Depolama süresi boyunca kafeik asit türevlerinin içeriğinin yanı sıra sık numune alma, fenilalanin amonyak liyaz (PAL), polifenol oksidaz (PPO) ve peroksidazın (POD) aktiviteleri hakkında önemli veriler sağlamıştır. Homojen marul örneklerinde, farklı yıkama prosedürlerinin neden olduğu değişimler tespit edilebilmiştir. Numunelerdeki PAL aktivitesi, 5-8 günlük depolamaya kadar artmıştır. Musluk suyu ve ozonlanmış su ile karşılaştırıldığında, kesilmiş veya kıyılmış marulu yıkamak için klorlu su (100-200 mg/L serbest klor) kullanımı, PAL aktivitesini ve buna eşlik eden 3,5-di-O-kafeoilkinik asit (izoklorojenik) artışını önemli ölçüde azaltmıştır. Asit izomer konsantrasyonları Fenolik asitler O-kafeoiltartarik (kaftarik asit), di-O-affeoiltartarik (kikorik asit), 5-O-kafeoilkinik (klorojenik asit izomeri) ve O-kafeoylmalik, farklı yıkama işlemlerinden daha az etkilenmiştir. Bireysel içerikler ya sabit kalmış ya da depolama sırasında azalmıştır. Ek olarak, geçici olarak meso-di-O-affeoyltartaric asit olarak tanımlanan başka bir kafeik asit izomerinin yeni bulgusu rapor edilmiştir. Mevcut çalışmanın sonuçları, alternatif yıkama prosedürleri nedeniyle, sırasıyla PAL aktivitesi ve 3,5-diCQA içeriği gibi doğranmış, paketlenmiş iceberg marulunun fenolik metabolizmasının bireysel niteliklerindeki farklılıkların saptanabilir olduğunu göstermektedir. Ayrıca depolanan marul örneklerinin görsel kalitesi, musluk ve ozonlu su yerine klorlu su kullanıldığında daha iyi sonuç vermiştir. Sonuç olarak, depolama sırasında parçalanmış iceberg marulunda yaranın neden olduğu PAL aktivitesinin inhibisyonu, 3,5-diCQA birikiminin en aza indirilmesi ve azaltılmış esmerleşme arasında iyi bir korelasyon mevcuttur. (Baur vd., 2004).

Domates çok önemli bir sebze mahsulüdür ancak raf ömrü kısadır. Yapılan çalışmada, ozon ve paketleme kombinasyonu işleminin domates meyvesinin kalitesi ve depolama ömrü üzerindeki etkisini belirlenmiştir. Yapılan altı farklı uygulama şu şekilde gerçekleştirilmiştir; kontrol (ozon ve paketleme olmadan), ozonsuz ve

polietilen torba ile paketlenmiş, ozon ve polietilen tereftalat punnet olmadan, ozonlu ama ambalajsız, ozonlu ve polietilen torba ile paketlenmiş ve ozon ve polietilen tereftalat punnet ile. Her muamele 3 tekerrür olarak yapılmıştır. Domates örnekleri uygun hasat döneminde elde edilerek çalışmada kullanılmıştır. Ozonlama işlemi 60 saniye uygulanmıştır. Domatesler daha sonra ambalajlı ve ambalajsız olarak işlenmiştir. Meyveler daha sonra oda sıcaklığında 12 güne kadar saklanmıştır. Değerlendirme parametreleri su içeriği, renk, doku, ağırlık kaybı ve doğal olarak kontamine *Escherichia coli* parametreleridir. Her parametre, depolamanın 0, 6 ve 12. günlerinde değerlendirilmiştir. Sonuçlar, ozon ve paketlenme işlemlerinin kombinasyonunun meyvenin fiziksel ve biyokimyasal değişikliklerini (su içeriği, renk, doku ve ağırlık kaybı) önemli ölçüde etkilediğini, meyve üzerindeki mikrobiyolojik kontaminasyonu baskıladığını ve 12 günlük depolamadan sonra meyve tazeliğini veya kalitesini koruduğunu göstermiştir. Ozon ve delikli polietilen paketlenme işleminin kombinasyonu, domates meyvesinin kalitesini korumak ve raf ömrünü oda sıcaklığında 12 gün olarak uzatmak için en iyi işlem olarak tespit edilmiştir (Zainuri vd., 2018).

Taze ürünler (işlenmiş meyve ve sebzeler), *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* ve insan parazitleri (örn. *hepatit A*, *Cyclospora*) gibi patojenleri etkileyen gıda kaynaklı hastalık salgınlarının ana kaynağı olmaya devam etmektedir. Önceden, salgınlar öncelikle yapraklı yeşillikler, domatesler ve kavunlarla sınırlı iken son zamanlarda daha çeşitli ürün türlerinin (örneğin salatalık ve papaya) dahil edildiği bir eğilim olmuştur. Çiftlikte iyi tarım uygulamaları (GAP), patojenlerin taze ürün zincirine girmesini önlemeye katkıda bulursa da, çiftçiliğin açık doğası nedeniyle tamamen güvenilmemektedir. Sonuç olarak, özellikle taze ürünler çiğ olarak yenildiğinde, sahadan edinilen kontaminasyonu ortadan kaldıracak müdahalelere yönelik tanımlanmış bir ihtiyaç vardır. Kontamine taze ürünlerle bağlantılı gıda kaynaklı hastalık salgınlarına genel bir bakış, potansiyel kontaminasyon kaynaklarıyla birlikte açıklanmıştır. Bir zamanlar dekontaminasyon olarak kabul edilen hasat sonrası yıkama, şimdi yüksek riskli bir çapraz bulaşma noktası olarak görülmektedir. Hasat sonrası yıkama sürecinin izlenmesindeki zorluklar, dikkate alınması gereken işleme faktörleri ile birlikte tartışılmıştır. Işınlama, ultraviyole ışık, yüksek hidrostatik basınç, gaz fazı (ozon ve klor dioksit) ve gelişmiş oksidatif işlem veya gaz plazma yoluyla üretilen hidroksil radikalleri

dahil olmak üzere bir dizi alternatif veya tamamlayıcı, susuz müdahale açıklanmıştır. Hepsinin laboratuvar ölçüğünde patojen kontrolünde etkili olduğu kanıtlanmıştır ve ticari uygulamaya girmeye hazırdır (Murray vd., 2017).

Gıda ürünleri üzerindeki gazlı ozon işlemleri, dezenfeksiyon potansiyelini artırmak için diğer sanitize edici teknolojilerle birleştirilebilir. Kalitatif, duyuşal ve mikrobiyolojik parametreleri izlemek için taze kesilmiş rokete 12 gün boyunca 5 °C'de UVC radyasyonu ile birlikte ozon uygulamaları uygulanmıştır. Bu teknolojilerin sinerjik antimikrobiyal aktivitesi, depolama süresi boyunca değişmeden kalan ürünün duyuşal kalitesini etkilememiş; bununla birlikte, gazlı ozon ve klor muamelelerine kıyasla, 8. günden itibaren mikrobiyal yükte bir azalmaya neden olmuştur (Botondi vd., 2021).

Alabalık örnekleri üzerinde yapılan çalışmada alabalık örnekleri 2 saat süreyle 0,1 mg/L konsantrasyonda ozonlu suya maruz bırakılmaktadır. Daha sonra depolamaya alınan alabalık örneklerinde mikrobial gelişimin yavaşladığı tespit edilmiştir. Çalışmanın sonucunda depolamadan önce ozon ile muamelenin raf ömrünü uzattığı tespit edilmiştir. Çalışmaya ek olarak ozonun balığın derisinde bulunan kirlilik unsurlarını giderdiği ve balıkta kalıntı bırakmadığı sonucuna varılmıştır (Dehkordi ve Zokai, 2010). Yapılan bu çalışmalara ek olarak sığır karkaslarında *Bacillus*, *Salmonella*, *E. coli* ve *koliform* türlerinde azalma olduğu belirtilmiş. Karkasların rengini koruduğu ve kötü koku üretmediği ise ek olarak bulgular arasındadır.

### **3. MATERYAL VE METOT**

Çalışmada, ozon konsantrasyonu ile uygulama süresi birlikte arttırılarak deneme planı hazırlanmıştır. Antalya ve çevresindeki turizm işletmesi çalışanları ve ozon cihazı temin eden bazı firmaların yetkilileri ile yapılan ön görüşmeler sonucunda bu tür işletmelerde yapılan ozonlama işlemleri hakkında bilgi edinilmeye çalışılmıştır.

Turizm işletmelerinde uygulanan ozonlama işlemlerinin, bu işletmelere ozon cihazı temin eden firmaların verdikleri prospektüs bilgileri ve firmaların önerdikleri uygulama şekillerine göre gerçekleştirildiği bilgileri edinilmiştir. Turizm işletmesi çalışanlarının, ozonlama ile yıkama işlemlerinde, edindikleri bu bilgiler ve öneriler çerçevesinde genel bir uygulama yaptıkları, ozonlama miktarı ve uygulama süresi konusunda spesifik ve standart uygulamaların yapılmadığı gözlenmiştir. Dolayısıyla, turizm çalışanları ve ozon cihazı satıcısı olan firma yetkilileri ile yapılan görüşmeler sonucunda turizm işletmelerinde uygulanan ozonlama işlemlerinde genel olarak ve çoğunlukla tercih edilen ozonlama miktarları ve uygulanma süreleri belirlenmiştir. Turizm endüstrisinde belirli bir standartta uygulanmayan bu şekildeki ozonlama işlemlerinin etkinliğini bilimsel ve laboratuvar koşullarda ortaya koyabilmek ve elde edilecek sonuçlara göre alternatif uygulama önerileri veya çözümleri sunabilmek amacıyla tez çalışmasında farklı denemeler gerçekleştirilmiştir.

Turizm işletmelerinde uygulanan ozonlama miktarları ve uygulama süreleri dikkate alınarak, yapılan tez çalışmasında gerçekleştirilen deneme planında çalışılacak olan ozonlama miktarı ve uygulama süreleri belirli aralıklarda tutulmuştur. Aynı zamanda ozonlama miktarı ve uygulama süresi birlikte arttırılarak deneme planı hazırlanmış ve bu şekilde çalışmalar gerçekleştirilmiştir.

#### **3.1. Meyve ve Sebze Numunelerinin temin edilmesi**

Denemede kullanılan meyve ve sebzeler bir marketten alınmıştır. Ozonlama uygulaması için her tekerrür için 2'şer kg roka, marul ve çilek numuneleri temin edilmiştir. Alınan meyve ve sebzeler mikrobiyolojik analizler için hazırlanmıştır.

### 3.2. pH Ölçümü

10 g numune 100 ml distile su ile blender yardımı ile homojen hala getirilmiş ve 15 dk süre ile çökmesi sağlanmıştır. Daha sonra otomatik bir pH elektrot (Hanna, HI 2211) kullanılarak doğrudan süspansiyondan pH ölçümü yapılmıştır.

### 3.3. Mikrobiyolojik Analizler

Farklı zaman aralıklarında ve farklı konsantrasyonlarda uygulanan ozonlama işlemlerinden geçirilen örnekler ve kontrol grubu örnekleri belirli miktarlarda alınarak, ozonlama işlemi sonrasında ürünlerin yüzeylerinde bulunan toplam aerob bakteri, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Koliform*, Küf ve maya patojen bakteri sayımları, uygun besiyerleri kullanılarak yapılmıştır. Analiz edilen örneklerden öncelikle  $10^8$  dilüsyon basamağına kadar dilüsyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Daha sonra sayımı yapılacak hedef bakterilerin geliştirileceği besiyerlerine uygun dilüsyonlardan bakteri inokülasyonu yapılmıştır. Gerçekleştirilen inkübasyon sonucu gelişen kolonilerin sayımı ile kontrol gruplarında ve analiz edilen diğer ürünlerin yüzeyinde işlem sonrası canlı kalan bakteri düzeyleri belirlenmiştir.

#### 3.3.1. Kontrol grupları için patojenlerin ön zenginleştirilmesi, patojen inokülasyonu ve bakteri düzeylerinin belirlenmesi

Tüketime hazır meyve ve sebzelerden roka, marul ve çilek örneklerinden kontrol denemelerinin gerçekleştirilmesi amacıyla ayrıca kontrol grupları hazırlanmıştır. Bu amaçla analiz edilecek söz konusu hazır meyve sebze örneklerine belirli oranlarda patojen bakteri inokülasyonları yapılmıştır. Yaklaşık olarak  $10^8$  cfu/ml düzeyinde *Listeria monocytogenes*,  $10^8$  cfu/ml düzeyinde *Salmonella enterica* ve  $10^8$  cfu/ml düzeyinde *Escherichia coli* kültürlerinden inoküle edilmiştir. Uygun besiyeri, sıcaklık ve sürelerinde gerçekleştirilen inkübasyonlar sonrası söz konusu patojenlerin besiyeri üzerinde gelişen koloni sayımları yapılmıştır.

Ayrıca kontrol gruplarının patojen inokülasyonu için öncelikle bir ön zenginleştirme işlemi gerçekleştirilmiştir.

*Listeria monocytogenes* ATCC 13932 koleksiyon numaralı 129-85 lot numaralı Micrbiologics marka referans kültürden inokülasyon yapılarak kültür yaklaşık olarak  $10^7$  düzeyinde zenginleştirilmiştir.

*Salmonella enterica* ATCC 9150 koleksiyon numaralı 341-72 lot numaralı Micrbiologics marka referans kültürden inokülasyon yapılarak kültür yaklaşık olarak  $10^7$  düzeyinde zenginleştirilmiştir.

*Escherichia coli* ATCC 8739 koleksiyon numaralı 483-993 lot numaralı Micrbiologics marka referans kültürden inokülasyon yapılarak kültür yaklaşık olarak  $10^8$  düzeyinde zenginleştirilmiştir.

Ozonlanmış suyun etkinliğini belirlemek amacıyla bir diğer kontrol grubu örneklerinde ozonlanmış su yerine şebeke suyu kullanılmıştır. Bu amaçla tüketime hazır meyve sebze örneklerinde ozonlanmış su yerine şebeke suyu kullanılarak yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir.

### **3.3.2. *Listeria monocytogenes* bakteri düzeyinin belirlenmesi**

Farklı zaman aralıklarında ve farklı konsantrasyonlarda uygulanan ozonlama işlemlerinden geçirilen örnekler ve kontrol grubu örnekleri belirli miktarlarda alınarak, ozonlama işlemi sonrasında ürünlerin yüzeylerinde bulunan *Listeria monocytogenes* patojen bakteri sayımları uygun besiyerleri kullanılarak yapılmıştır. Analiz edilen örneklerden uygun dilüsyon basamağına kadar seyreltme işlemleri gerçekleştirilmiştir. Daha sonra *Listeria monocytogenes* bakterilerinin geliştirileceği besiyerlerine uygun dilüsyon basamaklarından bakteri inokülasyonu yapılmıştır. Ön zenginleştirme 25 g numune 225 ml half fraser broth ile 24-26 saat  $30 \pm 1$  °C' de inkübe edilmiştir. Ön zenginleştirmenin sonunda half fraser brothdan, 10 ml fraser broth içeren tüpe 0,1 ml inoküle edilir.  $24 \pm 2$  saat sonra fraser broth tüplerinden öze yardımıyla, ilk katı selektif besiyeri *Listeria Ottaviani* and Agosti agara ve ikinci katı seçici besiyeri oxford agara çizimler yapılır. Petriler  $37 \pm 1$  °C' da 24-48 saat süreyle, inkübasyon işlemi uygulanmıştır. Gerçekleştirilen inkübasyon sonucu gelişen koloniler sayılmıştır. Yapılan sayım işlemi ile kontrol gruplarında ve analiz edilen diğer ürünlerin yüzeyinde ozonlama işlemi sonrasında canlı kalan bakteri sayısı belirlenmeye çalışılmıştır. Aloa besiyeri üzerinde oluşan etrafında opak zonu olan

yeşil-mavi renkli koloniler tipik *L. monocytogenes* kolonileridir. Oxford agarda tipik olarak kahverengi-siyah veya siyah, konkav, etrafı kahverengi zon ile çevrili, besiyerinde siyahlaşma oluşturan koloniler olarak gelişirler (ISO 11290-1, 2017).

Son aşamada ise Aloa ve Oxford agardan seçilen tipik şüpheli koloniler spesifik biyokimyasal reaksiyonlar ile doğrulanarak analiz edilen numunede *L. monocytogenes* olup olmadığı belirlenmiştir.

### **3.3.3. *Salmonella* spp. bakteri düzeyinin belirlenmesi**

Farklı zaman aralıklarında ve farklı konsantrasyonlarda uygulanan ozonlama işlemlerinden geçirilen örnekler ve kontrol grubu örnekleri belirli miktarlarda alınarak, ozonlama işlemi sonrasında ürünlerin yüzeylerinde bulunan *Salmonella* spp. patojen bakteri sayımları uygun besiyerleri kullanılarak yapılmıştır. Analiz edilen örneklerden uygun dilüsyon basamağına kadar seyreltme işlemleri gerçekleştirilmiştir. Daha sonra *Salmonella* spp. bakterilerinin geliştirileceği besiyerlerine uygun dilüsyon basamaklarından bakteri inokülasyonu yapılmıştır. 25 g numune steril bir spatül yardımıyla 225 ml selektif olmayan ön zenginleştirici tamponlanmış peptonlu su ile homojenize edilmiştir ve 34-38 °C' de 18 ± 2 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonu tamamlanan tamponlanmış peptonlu su besiyeri elde hafifçe ve birkaç kez karıştırılarak, steril pipetle 1 ml'si 10 ml'lik mkttn besiyerine, 0,1 ml'si 10 ml'lik rappaport vassiliadis broth besiyerine(rvs) steril pipet yardımıyla aktarılmıştır, tüpler vortex cihazında 3-4 saniye karıştırılmıştır. rvs besiyeri 41,5 ± 1 °C'de 24 ± 3 saat , muller-kauffmann tetrathionate-novobiocin broth (mkttn) besiyeri 37 ± 1 °C'de 24 ± 3 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonu tamamlanan mkttn ve rvs besiyerleri, inkübasyon süresinin bitiminde vorteksde yaklaşık 3-4 saniye karıştırılmıştır. Mkttn ve rvs besiyerinden bir öze dolusu sıvı alınarak brilliant green agar (BGA) ve xylose lysine deoxycholate (XLD) Agar katı besiyeri bulunan standart petrilere paralel çizgi ekim yapılmıştır ve petrilere ters çevrilerek 37 ± 1 °C'de 24 ± 3 saat inkübasyona bırakılmıştır. Gelişen tipik *Salmonella* spp. kolonileri bga'da pembe-kırmızı renkte, xld'de ise siyah merkezli ve etrafında şeffaf kırmızı zon olan koloniler şeklinde üremiştir. Gerçekleştirilen inkübasyon sonucu gelişen koloniler sayılmıştır. Yapılan sayım işlemi ile kontrol

gruplarında ve analiz edilen diğer ürünlerin yüzeyinde ozonlama işlemi sonrasında canlı kalan bakteri sayısı belirlenmeye çalışılmıştır (ISO 6579-1, 2017b) .

#### **3.3.4. *Escherichia coli* bakteri düzeyinin belirlenmesi**

Farklı zaman aralıklarında ve farklı konsantrasyonlarda uygulanan ozonlama işlemlerinden geçirilen örnekler ve kontrol grubu örnekleri belirli miktarlarda alınarak, ozonlama işlemi sonrasında ürünlerin yüzeylerinde bulunan *E. coli* patojen bakteri sayımları uygun besiyerleri kullanılarak yapılmıştır. Analiz edilen örneklerden uygun dilüsyon basamağına kadar seyreltme işlemleri gerçekleştirilmiştir. Daha sonra *E. coli* bakterilerinin geliştirileceği besiyerlerine uygun dilüsyon basamaklarından bakteri inokülasyonu yapılmıştır. *E. coli* analizi için numuneden 25 g, steril bir spatül yardımıyla 225 ml tamponlanmış peptonlu su içerisine tartıldıktan sonra çalkalayıcıda (Bag Mixer) en yüksek devirde 1-3 dk kadar çalkalanmaya bırakılmıştır. Dilüsyonlardan 1'er ml steril petrilere aktarılmıştır ve yaklaşık 44-47 °C'ye soğutulan tryptone bile x-glucuronide agar (TBX), 45 °C' ye soğutulduğunda, petrilere 15 ml kadar dökülerek dökme plak yöntemiyle ekim yapılır. Her bir dilüsyonun inokülasyonu sırasında farklı pipetler kullanılmalıdır. Petriler ters çevrilerek, 37 °C' de 4 saat inkübasyona bırakılır. 4 saatlik inkübasyon sonunda, petriler 44 °C' de 18-24 saat süreyle inkübasyona devam ettirilir. İnkübasyonu takiben petrilere oluşan mavi-yeşil koloniler, *E. coli* olarak kabul edilmiştir. Gerçekleştirilen inkübasyon sonucu gelişen koloniler sayılmıştır. Yapılan sayım işlemi ile kontrol gruplarında ve analiz edilen diğer ürünlerin yüzeyinde ozonlama işlemi sonrasında canlı kalan bakteri sayısı belirlenmeye çalışılmıştır(ISO 16649-2, 2001).

#### **3.3.5. Toplam aerob bakteri düzeyinin belirlenmesi**

Farklı zaman aralıklarında ve farklı konsantrasyonlarda uygulanan ozonlama işlemlerinden geçirilen örnekler ve kontrol grubu örnekleri belirli miktarlarda alınarak, ozonlama işlemi sonrasında ürünlerin yüzeylerinde bulunan toplam aerob bakteri sayımları uygun besiyeri kullanılarak yapılmıştır. Analiz edilen örneklerden uygun dilüsyon basamağına kadar seyreltme işlemleri gerçekleştirilmiştir. Daha sonra toplam aerob bakterilerin geliştirileceği besiyerlerine uygun dilüsyon basamaklarından bakteri inokülasyonu yapılmıştır. Dilüsyonlardan 1 ml steril bir

pipet yardımı ile boş petri kutularına aktarılmıştır. Her petri kutusuna su banyosunda  $45\pm 1^{\circ}\text{C}$  da tutulan plate count agar besiyerinden 12-15 ml ilave edilmiştir ve dairesel hareketlerle döndürülerek inokulum ile iyice karıştırılmıştır. Besiyerinin katılaşması beklendikten sonra petriler ters çevrilerek  $30\pm 1^{\circ}\text{C}$  da  $72\pm 3$  saat inkübe edilmiştir. Gerçekleştirilen inkübasyon sonucu gelişen koloniler sayılmıştır. Yapılan sayım işlemi ile kontrol gruplarında ve analiz edilen diğer ürünlerin yüzeyinde ozonlama işlemi sonrasında canlı kalan bakteri sayısı belirlenmeye çalışılmıştır (ISO 4833-1, 2014).

### 3.3.6. Kullanılan Cihazlar

Tez çalışmasında kullanılan cihazlar Çizelge 3.1’de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. Kullanılan Cihazlar

CİHAZ	MARKA	MODEL
Otoklav	Nüve	OT 40L
Otoklav	Nüve	OT 40L
İnkübatör	Nüve	EN 500
İnkübatör	Nüve	EN 400
Su Banyosu	Nüve	NB 20
NF Buzdolabı	Siemens	KDN64NW20N/01 FD 9210
Hassas Terazı	Kern	ACJ 220-4M
Biyogüvenlik Kabini	Nüve	MN 090
Soğutmalı İnkübatör	Nüve	ES 120
Stomacher	İnterscience	Begmixer 400P
Otomatik Pipet	Pipette	100-1000 $\mu\text{l}$
Hassas Terazı	Kern	PCB 2500-2
Isıtıcılı Manyetik Karıştırıcı	Daihan	MSH 20A
Blender	Waring	8009L
Vorteks	Daihan	VM 10
Distile Su Cihazı	Nüve	ND 8
Masaüstü Santrifüj	Nüve	NF 200
Otomatik Pipet	Brand	5-10 $\mu\text{l}$
Mikroskop	Olympus	CX22
Spektrofotometre	Shimadzu	UV mini 1240
İnkübatör	Nüve	EN 500
Otomatik Pipet	Brand	10-100 $\mu\text{l}$
Sıcaklık Nem Ölçer	TFA	30.5002
pH metre	Hanna	HI 2211
Çeker Ocak	Protech	-
Bulanıklık Ölçer	Lovibond	Turbicheck
Data logger	Testo	175T1
Data Logger	Testo	175T2
Infra-red termometre	Testo	830-T2
Infra-red termometre	Testo	830-T2
Sıcaklık Göstergesi	VERTH	CK 102
Kontrol ağırlığı /10 g	Zwiebel	10 g
Ozon Jeneratörü	Genozon	

### **3.3.7. Toplam Koliform Analizi**

Farklı zaman aralıklarında ve farklı konsantrasyonlarda uygulanan ozonlama işlemlerinden geçirilen örnekler ve kontrol grubu örnekleri belirli miktarlarda alınarak, ozonlama işlemi sonrasında ürünlerin yüzeylerinde bulunan toplam aerop bakteri sayımları uygun besiyeri kullanılarak yapılmıştır. Analiz edilen örneklerden uygun dilüsyon basamağına kadar seyreltme işlemleri gerçekleştirilmiştir. Daha sonra toplam aerop bakterilerin geliştirileceği besiyerlerine uygun dilüsyon basamaklarından bakteri inokülasyonu yapılmıştır. Dilüsyonlardan 1 ml steril bir pipet yardımı ile boş petri kutularına aktarılmıştır. Her petri kutusuna su banyosunda  $45\pm 1^{\circ}\text{C}$ ' da tutulan violet red bile agar besiyerinden 12-15 ml ilave edilmiştir ve dairesel hareketlerle döndürülerek inokulum ile iyice karıştırılmıştır. Besiyerinin katılaşması beklendikten sonra petri ters çevrilerek  $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ ' da  $24\pm 3$  saat inkübe edilmiştir. Gerçekleştirilen inkübasyon sonucu gelişen pembe, mor ve kırmızı koloniler sayılmıştır. Yapılan sayım işlemi ile kontrol gruplarında ve analiz edilen diğer ürünlerin yüzeyinde ozonlama işlemi sonrasında canlı kalan bakteri sayısı belirlenmeye çalışılmıştır.

### **3.3.8. Küf Maya Analizi**

Farklı zaman aralıklarında ve farklı konsantrasyonlarda uygulanan ozonlama işlemlerinden geçirilen örnekler ve kontrol grubu örnekleri belirli miktarlarda alınarak, ozonlama işlemi sonrasında ürünlerin yüzeylerinde bulunan toplam aerop bakteri sayımları uygun besiyeri kullanılarak yapılmıştır. Analiz edilen örneklerden uygun dilüsyon basamağına kadar seyreltme işlemleri gerçekleştirilmiştir. Daha sonra toplam aerop bakterilerin geliştirileceği besiyerlerine uygun dilüsyon basamaklarından bakteri inokülasyonu yapılmıştır. Dilüsyonlardan 1 ml steril bir pipet yardımı ile Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol (DRBC) Agar petri kutularına aktarılmıştır. Her petri drigalski spatülü ile iyice karıştırılmıştır. Petri  $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ ' da  $72\pm 3$  saat inkübe edilmiştir.

### **3.4. Ozon Uygulaması**

Ozon uygulamasının yapılacağı yıkama evyeleri, kullanım suyu ile doldurulmuştur. Dolum işleminden sonra evyelere 1, 3, 5 ve 10 ppm lik konsantrasyonlarda ozonlu su

olacak şekilde, ozon cihazından aktarma aparatı ile ozon gazı verilmiştir. Analiz edilecek olan örnekler sırasıyla 3 dk, 5 dk, 10 dk ve 15 dk ozonlu su ile muamele edilmiştir.



Şekil 3.1. Ozon uygulamada kullanılan cihazlar 1



Şekil 3.2. Ozon uygulamada kullanılan cihazlar 2

### **3.5. Renk Analizi**

Renk analizi CR 400 Konika Minolta (Ramsey, USA) cihazı kullanılarak ozonlu su ile yıkanan sebze ve meyve numuneleri rastgele seçilerek L\*, a\* ve b\* değerleri tespit edilmiştir. Minolta cihazı kullanılmadan önce beyaz standart yüzey ile kalibre edilmiştir

### **3.6. Duyusal Analizler**

Tüketime hazır marul, çilek ve roka ozon uygulamasından önce kullanım suyu ile durulanıp 10 farklı kişiye görüntü ve tat bakımından değerlendirmeleri istenmiştir. Ayrıca ozon uygulamasından sonra aynı 10 kişiye tüketime hazır marul, çilek ve roka görüntü ve tat bakımından değerlendirmeleri istenmiştir. Duyusal analizde 1 en düşük 5 en iyi olacak şekilde puanlamaları istenmiştir.

### **3.7. Kuru Madde Tayini**

Sabit ağırlığa getirilmek suretiyle darası alınmış kurutma kaplarına 0.01 g hassasiyetle tartılan numuneler, 100 °C'de etüvde (Nüve FN055, TÜRKİYE) sabit ağırlığa gelinceye kadar kurutulmuş ve toplam kuru madde miktarı yüzde olarak hesaplanmıştır.

### **3.8. Ağırlık Kaybı**

Ozonlanacak meyve ve sebze örnekleri ozon öncesi ve sonrası tartılarak ağırlık kayıpları hesaplanmıştır. Tartım işlemi Kern marka PCB 2500-2 (Germany) model hassas terazi ile yapılmıştır.

#### 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Hazır olarak tüketime sunulan taze meyve ve sebzeler, tüketilmeden önce ürünlerin özenli bir şekilde yıkanması son derece önemlidir. Taze meyve ve sebzelerin kesilmesi nedeniyle bu tür ürünlerde mikrobiyal gelişme söz konusu olabilmektedir. Özellikle gıda zehirlenmesine yol açabilen patojen bakteriler, insan sağlığı açısından risk oluşturabilmektedirler. Aynı zamanda Türk gıda kodeksi mikrobiyolojik kriterler tebliğinde tüketime hazır salatalarda *E.coli*, *Salmonella spp.* ve *Listeria monocytogenes* bakteri analizleri istenmektedir. Dolayısıyla yapılan tez çalışmasında bu patojen bakteriler test mikroorganizmaları olarak seçilmiştir. Aynı zamanda tüketime hazır olan yeşillik ve meyvelere uygulanan ön işlemlerden yıkama işlemlerinin etkinliğini ortaya koymak için yıkama işlemleri sonrasında ürünlerin yüzeyinde canlı kalan patojen bakterilerin yanı sıra toplam aerop bakteri düzeyleri de belirlenmeye çalışılmıştır. Günümüzde turizm tesislerinde yaygın bir şekilde kullanılmakta olan ozonlama işleminin etkinliğini belirlemek amacıyla gerçekleştirilen tez çalışmasında, normal şebeke suyu ile yapılan yıkama işlemleri ve ozonlanmış su ile yapılan yıkama işlemleri gerçekleştirilerek tez denemeleri gerçekleştirilmiştir.

Hazır olarak sunulan taze meyve ve sebzeler, tüketilmeden önce ürünlerin yıkanmasını, kesilmesini, paketlenmesini ve daha sonra uygun bir saklama sıcaklığında tutulmasını gerektirir. Taze meyve ve sebzelerin kesilmesi işlemi, doku özularının ortaya çıkmasına yol açar. Bu durum tüketime hazır olan bir gıda türü olarak meyve sebzelerde bakteri üremesi için uygun bir ortam oluşturur (Jablasone vd., 2005). Ayrıca, uygun hijyen olmadan, gıda ile uğraşanların elleri, kullanılan ekipman ve gıdalar arasında çapraz kontaminasyon meydana gelebilir ve bu da gıda zehirlenmesi riskini arttırmaktadır. Gıdaların işlenmesi, nakliyesi, teşhiri veya depolanması sırasında uygun olmayan sıcaklıklarda saklanması veya muhafaza edilmesi ve/veya önerilen son kullanma tarihinden sonra tüketilmesinde durum daha da kötüleşebilmektedir (Sela ve Fallik, 2009).

Yapılan tez çalışmasında turizm işletmelerinde uygulanmakta olan ozonlama kriterleri dikkate alınmıştır. Belirli aralıklarda uygulanan ozonlama miktarları ve uygulama sürelerine göre tez çalışmasında uygulanacak deneme planı

oluşturulmuştur. Çalışmadaki farklı denemeler, ozonlama miktarı ile uygulama süresi birlikte arttırılarak gerçekleştirilmiştir. Dolayısıyla ozonlama miktarı ve uygulama süresindeki artışın ürünlerdeki mikrobiyal inaktivasyon ve ürünlerin diğer analiz edilen özellikleri üzerindeki etkileri birlikte değerlendirilmiştir.

Çalışmada, ozonlama uygulamalarında kullanılan farklı ozon konsantrasyonu ve uygulama sürelerinin çilek, roka ve marul örneklerinde test edilen *E. coli* O157:H7 ve *L. monocytogenes* ve *Salmonella* spp. patojenleri, toplam mezofil bakteri, toplam koliform ve toplam maya küf düzeyleri üzerinde oluşan inaktivasyon düzeyleri sırasıyla Çizelge 4.1 ve Çizelge 4.2’de verilmiştir.

#### 4.1. Şebeke suyu ile yıkama işlemi yapılan kontrol grubu örneklerinde mikrobiyolojik analizler

Kontrol amaçlı olarak yapılan denemelerde, tüketime hazır meyve ve sebzeler ilk olarak şebeke suyu ile yıkanarak mikrobiyolojik değişimler analiz edilmiştir. Elde edilen veriler Çizelge 4.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Yıkama Suyu Kontrolü

Kullanım Suyu	Çilek	Roka	Marul
<i>Salmonella spp.</i>	0,65 log cfu	0,79 log cfu	0,42 log cfu
<i>E.coli</i>	0,48 log cfu	0,42 log cfu	0,54 log cfu
<i>L. monocytogenes</i>	0,4 log cfu	0,42 log cfu	0,31 log cfu
<i>Toplam aerob bakteri</i>	0,34 log cfu	0,28 log cfu	0,34 log cfu
<i>Küf maya</i>	0,35 log cfu	0,25 log cfu	0,47 log cfu
<i>Toplam koliform</i>	0,49 log cfu	0,47 log cfu	0,26 log cfu

Meyve ve sebzelerin yıkanmasında en çok tercih edilen ve uygulanan saf su, çeşme suyu veya klorlu su ile yıkama gibi klasik yıkama işlemlerine göre ozonlama işlemlerinin etkinliğini belirlemek amacıyla yapılan çalışmalar da bulunmaktadır. Bu tür yıkama işlemleri ozonlama işlemleri ile birlikte ayrıca uygulanmış ve sonuçlar değerlendirilmiştir.

Yapılan tez çalışmasında turizm işletmelerinde yıkama amacıyla kullanılan çeşme suyu kullanıldığı için yıkama işlemlerinde ayrıca çeşme suyu ile yıkama işlemleri de gerçekleştirilmiştir. Yaklaşık 0,3 ppm klor içeren şebeke suyu ile yapılan yıkama

işlemlerinde çilek, roka ve marulda *Salmonella* spp. sayısında sırasıyla 0,65; 0,79; 0,42 logaritmik oranda düşüşler belirlenmiştir. Aynı zamanda çilek, roka ve marulda sırasıyla bu düşüş oranlarının *E.coli* O157:H7 için 0,48; 0,42; 0,54 log, *L. monocytogenes* için ise 0,40; 0,42; 0,31 log düzeylerinde olduğu gözlenmiştir. Toplam koliform bakteri düzeylerinde de benzer şekilde çeşme suyu ile yıkama işlemlerinin sınırlı düzeyde etkili olduğu belirlenmiştir. Çilek, roka ve marul için sırasıyla 0,49; 0,47; 0,26 log düzeylerinde düşüşler tespit edilmiştir.

Toplam mezofil bakteri düzeylerinde de benzer şekilde çeşme suyu ile yıkama işlemlerinin sınırlı düzeyde etkili olduğu belirlenmiştir. Çilek, roka ve marul için sırasıyla 0,34; 0,28; 0,34 log düzeylerinde düşüşler tespit edilmiştir.

Toplam maya küf düzeylerinde ise çeşme suyu ile yıkama işlemlerinin sınırlı düzeyde etkili olduğu belirlenmiştir. Çilek, roka ve marul için sırasıyla 0,35; 0,25; 0,47 log düzeylerinde düşüşler tespit edilmiştir.

#### **4.2. Ozon uygulamasının test edilen mikroorganizmalar üzerine etkisi**

Türk gıda kodeksi mikrobiyolojik kriterler tebliğinde tüketime hazır salatalarda *E.coli*, *Salmonella* spp. ve *Listeria monocytogenes* analizleri istenmektedir. Ancak diğer patojenler kodekste olmamasına rağmen toplam koliform, küf – maya, toplam aerob bakteri analizleri de gerçekleştirilmiştir. Farklı zamanlarda ve dozlarda uygulanan ozon işleminin ardından meyve ve sebzelerden elde edilen logaritmik azalmalar Çizelge 4.2, Çizelge 4.3, Çizelge 4.4, Çizelge 4.5, Çizelge 4.6 ve Çizelge 4.7’de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Ozon uygulamasının *Salmonella spp.* üzerine etkisi

Patojen/ diğer bakteri	Sebze/Mey ve	Uygulama Süresi (dakika)	Ozon miktarı (ppm, mg/l)	geri kalan mo sayısı (canlı kalan)	Azalma oranı
<i>Salmonella spp.</i>	Çilek	0	0	8,9	0,65
		3	1	7,69	1,21
		5	3	7,07	1,83
		10	5	6,85	2,05
		15	10	6,36	2,54
	Roka	0	0	8,92	0,79
		3	1	7,51	1,41
		5	3	7,16	1,76
		10	5	6,62	2,3
		15	10	6,13	2,79
	Marul	0	0	8,89	0,42
		3	1	8,1	0,79
		5	3	7,39	1,5
		10	5	6,98	1,91
		15	10	6,41	2,48

Çizelge 4.3. Ozon uygulamasının *E.coli* üzerine etkisi

Patojen/ diğer bakteri	Sebze/Mey ve	Uygulama Süresi (dakika)	Ozon miktarı (ppm, mg/l)	geri kalan mo sayısı (canlı kalan)	Azalma oranı
<i>E. coli</i>	Çilek	0	0	8,07	0,48
		3	1	7,04	1,03
		5	3	6,43	1,64
		10	5	6,11	1,96
		15	10	5,79	2,28
	Roka	0	0	8,05	0,42
		3	1	6,83	1,22
		5	3	6,42	1,63
		10	5	6,08	1,97
		15	10	5,61	2,44
	Marul	0	0	8,09	0,54
		3	1	7,16	0,93
		5	3	6,89	1,2
		10	5	6,49	1,6
		15	10	5,92	2,17

Çizelge 4.4. Ozon uygulamasının *Listeria monocytogenes*. üzerine etkisi

Patojen/ diğer bakteri	Sebze/Mey ve	Uygulama Süresi (dakika)	Ozon miktarı (ppm, mg/lt)	geri kalan mo sayısı (canlı kalan)	Azalma oranı
<i>Listeria monocytogenes</i>	Çilek	0	0	8,85	0,4
		3	1	8,21	0,64
		5	3	7,86	0,99
		10	5	7,34	1,51
		15	10	6,85	2
	Roka	0	0	8,87	0,42
		3	1	8,06	0,81
		5	3	7,91	0,96
		10	5	7,22	1,65
		15	10	6,53	2,34
	Marul	0	0	8,84	0,31
		3	1	8,41	0,43
		5	3	8,02	0,82
		10	5	7,68	1,16
		15	10	7,16	1,68

Çizelge 4.5. Ozon uygulamasının Toplam aerob bakteri üzerine etkisi

Patojen/ diğer bakteri	Sebze/Mey ve	Uygulama Süresi (dakika)	Ozon miktarı (ppm, mg/lt)	geri kalan mo sayısı (canlı kalan)	Azalma oranı
Toplam aerob bakteri	Çilek	0	0	8,2	0,34
		3	1	7,59	0,61
		5	3	7,14	1,06
		10	5	6,59	1,61
		15	10	6,1	2,1
	Roka	0	0	8,21	0,28
		3	1	7,61	0,6
		5	3	7,03	1,18
		10	5	6,23	1,98
		15	10	5,67	2,54
	Marul	0	0	8,22	0,34
		3	1	7,28	0,94
		5	3	6,65	1,57
		10	5	6,18	2,04
		15	10	5,81	2,41

Çizelge 4.6. Ozon uygulamasının Maya ve küf üzerine etkisi

Patojen/ diğer bakteri	Sebze/Mey ve	Uygulama Süresi (dakika)	Ozon miktarı (ppm, mg/lt)	geri kalan mo sayısı (canlı kalan)	Azalma oranı
Maya- Küf	Çilek	0	0	8,27	0,35
		3	1	7,66	0,61
		5	3	7,25	1,02
		10	5	6,51	1,76
		15	10	5,74	2,53
	Roka	0	0	8,24	0,25
		3	1	7,88	0,36
		5	3	7,27	0,97
		10	5	6,53	1,71
		15	10	5,92	2,32
	Marul	0	0	8,25	0,47
		3	1	7,53	0,72
		5	3	7,01	1,24
		10	5	6,43	1,82
		15	10	6,03	2,22

Çizelge 4.7. Ozon uygulamasının Koliform bakteri üzerine etkisi

Patojen/ diğer bakteri	Sebze/Mey ve	Uygulama Süresi (dakika)	Ozon miktarı (ppm, mg/lt)	geri kalan mo sayısı (canlı kalan)	Azalma oranı
Toplam koliform Bakteri	Çilek	0	0	8,08	0,49
		3	1	7,13	0,95
		5	3	6,58	1,5
		10	5	5,81	2,27
		15	10	5,21	2,87
	Roka	0	0	8,1	0,47
		3	1	7,29	0,81
		5	3	6,51	1,59
		10	5	5,97	2,13
		15	10	5,54	2,56
	Marul	0	0	8,11	0,26
		3	1	7,53	0,58
		5	3	7,05	1,06
		10	5	6,47	1,64
		15	10	5,88	2,23

Kontrol amaçlı musluk suyu ile yıkama işlemi ve diğer uygulanan 4 farklı ozonlu su ile yıkama işlemlerinin, çilek, roka ve marul örneklerinde mikrobiyal inaktivasyon bakımından belirli düzeylerde etkili oldukları gözlenmiştir.

### 4.3. pH analizi

Tüketime hazır meyve ve sebzelerin ozon uygulamasından önce ve sonrasında pH analizleri sonuçları Çizelge 4.8’de verilmiştir.

Çizelge 4.8. Ozon öncesi ve sonrasında pH değerleri

Sebze/Meyve	Uygulama Süresi (dakika)	Ozon miktarı (ppm, mg/l)	pH
Çilek	0	0	4,02 ± 0,01
	3	1	4,05 ± 0,01
	5	3	4,06 ± 0,01
	10	5	4,09 ± 0,01
	15	10	4,15 ± 0,01
Roka	0	0	6,45 ± 0,01
	3	1	6,46 ± 0,01
	5	3	6,48 ± 0,01
	10	5	6,51 ± 0,01
	15	10	6,56 ± 0,01
Marul	0	0	6,4 ± 0,01
	3	1	6,42 ± 0,01
	5	3	6,43 ± 0,01
	10	5	6,49 ± 0,01
	15	10	6,54 ± 0,01

Tez çalışmasında, denemelerde kullanılan meyve ve sebze örneklerinde, uygulanan farklı ozon konsantrasyonu ve uygulama sürelerine bağlı olarak değişen pH değerleri belirlenmiştir. Kontrol ve deneme grupları arasındaki pH değerlerinde anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir.

### 4.4. Renk Analizi

Tüketime hazır meyve ve sebzelerin ozon uygulamasından önce ve sonra renk analizleri yapılmıştır. Yapılan analiz sonuçları Çizelge 4.9’da verilmiştir.

Çizelge 4.9. Ozon uygulaması öncesi ve sonrasında renk analizi

Sebze/Meyve	Süre (dakika)	Ozon miktarı (ppm, mg/lt)	L	a*	b*
Çilek	0	0	25,13	35,78	20,45
	3	1	27,23	38,49	23,71
	5	3	35,47	45,87	25,81
	10	5	33,59	39,74	20,13
	15	10	34,05	47,53	27,15
Roka	0	0	40,35	-17,89	26,53
	3	1	45,76	-19,39	32,92
	5	3	45,67	-21,61	31,88
	10	5	45,92	-20,86	30,21
	15	10	45,06	-18,17	28,68
Marul	0	0	41,19	-14,67	27,18
	3	1	54,07	-22,28	38,17
	5	3	49,57	-23,72	39,09
	10	5	52,41	-23,11	39,84
	15	10	55,55	-23,26	40,26

Tez çalışmasında, denemelerde kullanılan meyve ve sebze örneklerinde, uygulanan farklı ozon konsantrasyonu ve uygulama sürelerine bağlı olarak değişen renk değerleri belirlenmiştir. Kontrol ve deneme grupları arasındaki renk değerlerinde anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir.

#### 4.5. Duyusal Analiz

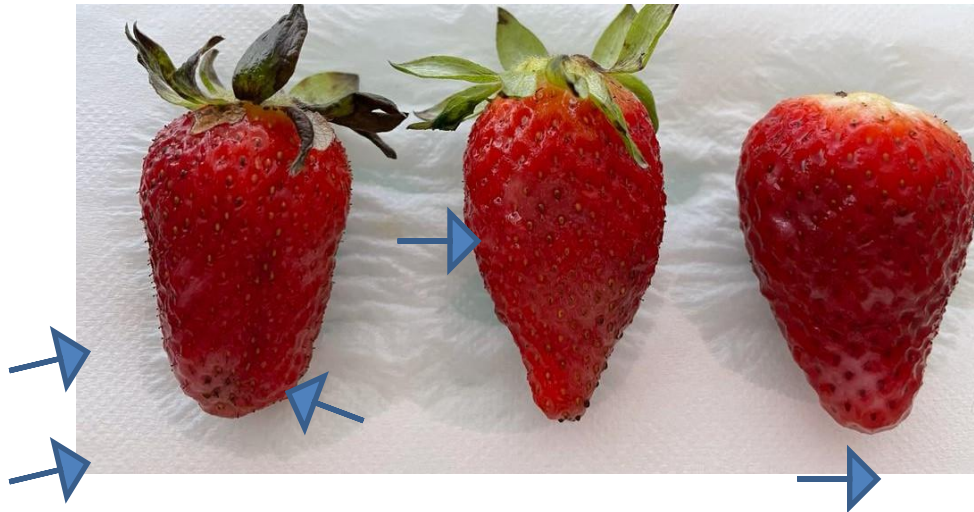
Tüketime hazır marul, çilek ve roka ozon uygulamasından önce kullanım suyu ile durulanıp 10 farklı kişiye görüntü ve tat bakımından değerlendirmeleri istenmiştir. Ayrıca ozon uygulamasından sonra aynı 10 kişiye tüketime hazır marul, çilek ve roka görüntü ve tat bakımından değerlendirmeleri istenmiştir. Ozon uygulaması sonrası görüntü ve tatta herhangi bir olumsuz fark olup olmadığı Çizelge 4.10'da verilmiştir.

Çizelge 4.10. Duyusal Analiz Sonuçları

Sebze/ Meyve	Depolama/sunumda kalma Süresi (dakika)	Ozon miktarı (ppm, mg/lt)	Görünüş	Renk	Aroma	Toplam kalite
Çilek	0	0	5	5	5	5
	3	1	5	5	5	5
	5	3	4,9	4,8	5	4,9
	10	5	4,3	4,2	4,1	4,2
	15	10	3,9	3,7	3,6	3,7
Roka	0	0	5	5	5	5
	3	1	5	5	5	5
	5	3	4,9	4,9	4,9	4,9
	10	5	4,8	4,9	4,7	4,8
	15	10	4,7	4,9	4,6	4,7
Marul	0	0	5	5	5	5
	3	1	5	5	5	5
	5	3	4,8	4,9	5	4,9
	10	5	4,6	4,7	4,9	4,7
	15	10	4,6	4,8	4,8	4,7

Tez çalışmasında, denemelerde kullanılan marul ve roka örneklerinde, uygulanan farklı ozon konsantrasyonu ve uygulama sürelerine bağlı olarak görünüş, renk ve aroma özelliklerinde kontrol ve ozon uygulamaları arasında anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür. Ancak çilek için süre ve ozon uygulama dozu arttıkça görsel anlamda olumsuzluklar ortaya çıkmıştır.

Çileğe ait görsel bozukluklar şekil 4.1’de verilmiştir.



Şekil 4.1. Yüksek doz ozonun çileğe etkisi

15 dakika 10 ppm ve 20 dk 30 ppm ozon uygulama sonucu çileklerde beyaza yakın renkte lekeler oluşmuştur.

#### 4.6. Kuru Madde Miktarı

Çilek, marul ve roka örneklerinin ozon uygulaması yapıldıktan sonraki kuru madde miktarlarındaki değişim Çizelge 4.11’de verilmiştir.

Çizelge 4.11. Kuru madde miktarı

Sebze/Meyve	Uygulama Süresi (dakika)	Ozon miktarı (ppm, mg/lt)	Kurutma öncesi (g)	Kurutma sonrası (g)	Kuru Madde miktarı %
Çilek	0	0	18,52	1,56	8,42
	3	1	23,65	1,98	8,37
	5	3	15,73	1,26	8,01
	10	5	26,81	2,11	7,87
	15	10	22,14	1,73	7,81
Roka	0	0	7,51	0,73	9,72
	3	1	8,56	0,81	9,46
	5	3	7,12	0,68	9,55
	10	5	8,41	0,79	9,39
	15	10	8,96	0,83	9,26
Marul	0	0	25,11	1,09	4,34
	3	1	29,71	1,27	4,27
	5	3	27,19	1,17	4,30
	10	5	26,88	1,15	4,28
	15	10	25,93	1,1	4,24

Tez çalışmasında, denemelerde kullanılan meyve ve sebze örneklerinde, uygulanan farklı ozon konsantrasyonu ve uygulama sürelerine bağlı olarak kuru madde miktarında kontrol ve ozon uygulamaları arasında anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür.

#### 4.7. Ağırlık Kaybı

Çilek, marul ve roka örneklerinin ozon uygulaması yapıldıktan sonraki ağırlık kayıplarındaki değişim Çizelge 4.12’de verilmiştir.

Çizelge 4.12. Ağırlık kaybı

Sebze/Meyve	Uygulama Süresi (dakika)	Ozon miktarı (ppm, mg/l)	Başlangıç (g)	Ağırlık Kaybı (g)	Ağırlık Kaybı %
Çilek	0	0	21,77	0	
	3	1	21,75	-0,02	-0,09
	5	3	21,7	-0,07	-0,32
	10	5	21,66	-0,11	-0,51
	15	10	21,59	-0,18	-0,83
Roka	0	0	8,55	0	
	3	1	8,54	-0,01	-0,12
	5	3	8,54	-0,01	-0,12
	10	5	8,52	-0,03	-0,35
	15	10	8,51	-0,04	-0,47
Marul	0	0	28,79	0	
	3	1	28,77	-0,02	-0,07
	5	3	28,76	-0,03	-0,10
	10	5	28,71	-0,08	-0,28
	15	10	28,66	-0,13	-0,45

Tez çalışmasında, denemelerde kullanılan meyve ve sebze örneklerinde, uygulanan farklı ozon konsantrasyonu ve uygulama sürelerine bağlı olarak ağırlık kaybı miktarında kontrol ve ozon uygulamaları arasında anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür.

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Her geçen gün nüfusun artmasıyla beraber az işlenmiş gıdalara olan talep artmaktadır. Bununla beraber az işlenmiş gıdaların başında olan taze meyve ve sebzelerin de tüketimi geçen yıllarla beraber artış göstermiştir. Meyve ve sebzelerde az işlenmiş gıdalar içine dahil edildiğinden az ısı işlem uygulanmaktadır veya hiç uygulanmamaktadır. Bu durum meyve ve sebzeler üzerinde ek uygulamalara ihtiyaç olduğunu göstermektedir. Meyve ve sebze sektöründe uygulama olanakları yaygın olan ozon ise bu ihtiyacı karşılama konusunda oldukça başarılıdır.

Hazır olarak sunulan taze meyve ve sebzeler, tüketilmeden önce ürünlerin yıkanmasını, kesilmesini, paketlenmesini ve daha sonra uygun bir saklama sıcaklığında tutulmasını gerektirir. Taze meyve ve sebzelerin kesilmesi işlemi, doku özularının ortaya çıkmasına yol açar. Bu durum tüketime hazır olan bir gıda türü olarak meyve sebzelerde bakteri üremesi için uygun bir ortam oluşturur (Jablasone vd., 2005). Ayrıca, uygun hijyen olmadan, gıda ile uğraşanların elleri, kullanılan ekipman ve gıdalar arasında çapraz kontaminasyon meydana gelebilir ve bu da gıda zehirlenmesi riskini arttırmaktadır. Gıdaların işlenmesi, nakliyesi, teşhiri veya depolanması sırasında uygun olmayan sıcaklıklarda saklanması veya muhafaza edilmesi ve/veya önerilen son kullanma tarihinden sonra tüketilmesinde durum daha da kötüleşebilmektedir (Sela ve Fallik, 2009).

Taze kesilmiş iceberg marul gibi düşük düzeyde işlenmiş taze ürünlerde mikroorganizmalar, özellikle *E.coli* ve *Salmonella spp.* ciddi bir gıda güvenliği sorunudur. Hassenberg ve Idler, (2005) yaptıkları çalışmada iceberg marulu yıkama suyu ve 1.5 ppm ozonlanmış su ile yıkayarak mikroorganizmaların eliminasyonunu araştırmıştır. Yıkama işleminin ardından ve 4 °C' de altı günlük depolamadan sonra, marul dilimlerinin kalitesi, duyusal analizi, mikrobiyolojik analizleri, pH, C vitamini ve şeker içeriği analizleri yapılmıştır. Ozonlu yıkama işleminden sonra mikrobiyal yükte 1 log birim azalma elde edilmiştir. C vitamini ve şeker içeriği ozonlu su ile yıkama işleminden etkilenmemiştir. Yapılan çalışmada ozon uygulamasının marul temizliği için faydalı olduğu ve marulun içeriği için zararsız olduğu tespit edilmiştir.

Ne yazık ki, minimum düzeyde işlenmiş sebzelerin taze doğası gereği, patojenleri azaltmak veya ortadan kaldırmak için pişirme/ısıtma gibi geleneksel işlemlerin kullanılmasını engeller. Bu nedenle, mikrobiyal kontaminasyonu önlemeye yönelik hasattan itibaren önlemler alınmalıdır. Bununla birlikte hasattan önce çok sayıda olası patojen kontaminasyonu kaynağı göz önüne alındığında, taze kesilmiş ürünlerin güvenliğini arttırmak amacıyla mikrobiyal kontaminasyonu kontrol etmek için bilime dayalı tarım yönergelerini kullanmak gerekmektedir.

Maliyetlerin uygun olması ile beraber ozon uygulaması çoğu turizm tesislerinde kullanılmaktadır. Ancak ülkemiz de ki otellerde uygulamanın sonrasında ozonun ne derece etkili olduğuna dair çalışmalar yapılmamıştır. Artan otel sayısı ile beraber artan turist sayısı ile gelen misafirlerin tüketeceği gıdaların güvenliğini sağlamak için oteller daha dikkat etmek durumundadır. Böylece turizm tesislerinde gıda güvenliğinin artırılması, yapılacak yeni çalışmalara alt yapı oluşturulması ve konu ile ilgili literatürdeki boşluğun doldurulması amaçlanmaktadır.

Tez çalışmasında, denemelerde kullanılan meyve ve sebze örneklerinde, uygulanan farklı ozon konsantrasyonu ve uygulama sürelerine bağlı olarak değişen inaktivasyon düzeyleri belirlenmiştir. Kontrol grubu dışında, ozon konsantrasyonu ile uygulama süresinin birlikte artırılarak uygulandığı diğer dört farklı uygulama gruplarında, genel olarak test edilen her üç ürüne inoküle edilen *E.coli* O157:H7 patojen düzeylerinde 0,93- 2,44 logaritmik aralıklarda düşüşlerin olduğu belirlenmiştir.

Benzer şekilde üç ürün grubuna inoküle edilen, *L. monocytogenes* patojen düzeylerinde görülen 0,43- 2,34 logaritmik ve *Salmonella* spp. patojen oranlarında ise 0,79- 2,79 logaritmik düzeylerde azalmaların olduğu gözlenmiştir.

En fazla görülen azalma oranları tüm mikroorganizma grupları için, denemelerde çalışılan maksimum konsantrasyon ve süre uygulaması olan 10 ppm' de 15 dakika ozonlama işlemi ile elde edilmiştir. Söz konusu en yüksek mikrobiyal inaktivasyon oranları, patojen türü ve diğer mikroorganizma gruplarına göre farklılık göstermekle beraber *E.coli* O157:H7 için bu oran 2,17-2,44 log arasında değişkenlik göstermiştir. *L. monocytogenes* için bu oranın 1,68-2,34 log arasında, *Salmonella* spp. patojeni için ise 2,48-2,79 log arasında olduğu görülmüştür. Benzer şekilde, maksimumum

mikrobiyal inaktivasyon oranları bakımından, toplam koliform bakteri sayısında 2,23-2,87 log arası düşüş belirlenirken, toplam mezofil bakteri sayısında 2,1-2,54 log arası, maya küf sayısında ise 2,22-2,53 log arasında değişen mikrobiyal düşüşlerin olduğu tespit edilmiştir.

Konsantrasyon ve sürenin birlikte artırılarak yapılan denemelerde ozon konsantrasyonu ve uygulama süresi arttıkça test edilen patojenlerin ve diğer mikroorganizma gruplarının inaktivasyonunda genel olarak belirli düzeylerde bir artış olduğu gözlenmiştir. Ancak musluk suyu ile yapılan yıkama işlemlerinde yıkama etkinliğinin mikrobiyal inaktivasyon üzerinde oldukça düşük düzeyde mikrobiyal inaktivasyon etkisi gözlenmiştir. Bununla birlikte ozon miktarı ve yıkama süreleri nispeten artırılan diğer denemeler içerisinde düşük düzeylerde uygulanan ozon konsantrasyonu ve yıkama süreleri sonucunda sınırlı ölçülerde mikrobiyal inaktivasyon sağlandığı belirlenmiştir.

Gaz formunda ve sulu formdaki ozonun kullanımının bazı mikroorganizmalar özellikle patojen bakteriler üzerinde antimikrobiyal etkisini gösteren birçok çalışma bulunmaktadır. Yapılan araştırmalarda, özellikle çiğ tüketilen yeşil yapraklı sebzelerin ve meyvelerin dezenfeksiyonu amacıyla ozonlama işlemlerinin kullanılabilirliği belirlenmeye çalışılmıştır. Ispanak gibi bazı yeşil yapraklı sebzelerin tüketimi sonucu *E. coli* O157:H7 patojeninden kaynaklandığı ileri sürülen rahatsızlıklar ve hatta salgından dolayı yeşil yapraklı sebzelerin tüketimine daha çok odaklanılmıştır. Gıda güvenliği açısından oldukça önemli olan bu tür tüketimlere yönelik alınabilecek önlemler ya da uygulamaların geliştirilmesi için birçok araştırma bulunmaktadır. Son zamanlarda bu amaçla yapılan çalışmalarda artış dikkat çekmektedir.

Kim vd. (1999) tarafından yapılan bir çalışmada, kesilmiş marul yaprakları, 1.3 mM sulu ozon ile 3 dakika süre ile muamele edilmiş ve bu işlem sonrasında toplam bakteri sayısında 1.9 log düzeyinde mikrobiyal bir inaktivasyon olduğu rapor edilmiştir.

Yaşanılan bazı shigelloz salgınının *Shigella* patojeni ile kontamine olan taze kesilmiş sebzelerin tüketimine kaynaklandığı kaydedilmiştir. Bu yönde yapılan bir çalışmada,

*S. sonnei* patojeninin ozonla inaktivasyonunu sağlamak amacıyla ozonun dezenfeksiyonda kullanılabileceği düşünülmüştür. Yaptıkları çalışmada, 1.6 ve 2.2 ppm konsantrasyonlarda 1 dakikalık ozonlama işlemlerinin sudaki *S. sonnei* popülasyonunu sırasıyla 3,7 ve 5,6 log düzeyinde azaldığını belirlemişlerdir. Ayrıca çalışmalarında, 5 ppm sulu ozonlama işlemi 5 dakika süre ile uyguladıkları marul örneklerinde *S. sonnei* düzeylerinin 1.8 logaritmik oranda azaldığını göstermişlerdir (Selma vd. 2007).

Sharma ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmalarda (2002, 2003) ozonlama işlemleri ile *E. coli* O157:H7 patojeninin inaktivasyonu ortaya konulmuştur. Sharma vd. (2002) yaptıkları çalışmada, yonca tohumları ve filizlerine *E. coli* O157:H7 patojen suşları inoküle edilmiştir. Çalışmada, 4°C sıcaklıkta 4, 8, 10 ve 21 ppm ozon içeren suya 2, 4, 8, 16, 32 ve 64 dakika boyunca test edilen örnekler daldırılmıştır. Ozonlama işlemlerinin patojene karşı belli oranda inaktivasyon etkisi gösterdiği belirlenmiştir. Yapılan çalışmada uygulanan ozonlama işlemi sonrasında yonca tohumlarında *E. coli* O157:H7 patojeninde ozon konsantrasyonu ve zamana bağlı olarak en iyi sonucun ortalama 2,2 log düzeyinde olduğu kaydedilmiştir.

Yapılan benzer çalışmada ise elmalar üzerinde *E. coli* O157:H7 patojeninin inaktivasyonu belirlenmeye çalışılmıştır. Çalışmada, elmalara 23-30 mg/L miktarında ozon içeren su ile yıkama işlemi uygulanmıştır. Elma örneklerinde *E. coli* O157:H7 patojen bakterisi üzerinde 3,7 log düzeyinde inaktivasyon sağlandığı gözlenmiştir (Achen ve Yousef, 2001).

Yuk vd. (2007) tarafından yapılan çalışmada, mantar örneklerinin yüzeyine *E. coli* O157:H7 ve *Listeria monocytogenes* patojenlerini inoküle etmişler ve mantarları 3 ppm' lik ozon çözeltisi ile karıştırma işlemi uygulamaksızın 5 dakika süre ile yıkamışlardır. Uygulama sonrasında *E. coli* O157:H7 ve *Listeria monocytogenes* patojenlerinin sırasıyla 0.94 ve 0.34 logaritma düzeyinde oldukça düşük oranda bir düşüş olduğu gözlenmiştir.

Inatsu vd. (2013) yaptıkları çalışmada, marul, lahana, çin lahanası, ıspanak gibi yapraklı sebze örneklerinde, ozonlanmış suyun *E. coli* O157:H7 ile birlikte 9 farklı patojen ve 2 adet laktik asit bakterisine karşı inaktivasyon etkisini belirlemeye

çalışmışlardır. Yapılan çalışmalardan özellikle 5,44 mg/L konsantrasyonda ozon içerecek şekilde ve suda mikrobaloncuk halinde uygulanan ozonlama işleminin 3 dakika boyunca uygulanması sonucunda *E. coli* O157:H7 patojenine karşı 7.4 logaritma düzeyinde bir inaktivasyon sağlandığı vurgulanmıştır.

Geliştirilen özel bir ambalajlama uygulaması ile ortamda ozon sağlanması ile ıspanak örneklerinin korunması amaçlanmıştır. Söz konusu uygulama ile ıspanaktaki *E. coli* O157:H7 patojen popülasyonunda yaklaşık 3-5 logaritma düzeyinde inaktivasyon sağlanmıştır. Bunun yanı sıra işlenmiş ıspanak örneklerinde önemli düzeyde kalite kayıplarında gözlemlendiği belirtilmiştir (Klockow ve Keener, 2009).

Güvenilir bir şekilde ıspanak tüketimine sağlayabilecek ozonlama uygulamalarının test edildiği bir başka çalışmada ise ozonlama uygulamasının patojenlere karşı etkinliği araştırılmıştır. Ispanak örnekleri pastörizasyon işleminin ardından gaz ozon uygulaması ile 1.5 g O<sub>3</sub> kg/L gaz karışımı veya 935 ppm v ozon/v gaz karışımı olacak şekilde yapılmıştır. Ozonlama işlemleri 30 ve 45 dakika sürelerle uygulanmıştır. Ispanak örneklerinde *E. coli* O157:H7 patojen popülasyonunda 1.8 logaritma düzeyinde düşüş görülmüştür. Ayrıca 45 dakika ozonlama işleminin kalite kayıplarına neden olduğu belirlenmiştir (Vurma vd., 2009).

Elma sularının tüketiminden ve elma sularına kontamine olan *E. coli* O157:H7 patojeninden kaynaklı salgınların yaşanması bazı araştırma gruplarını ozonlama işlemlerinin bu tür ürünlerde de kullanılabilirliğini araştırmaya yönlendirmiştir. Williams vd. (2004) tarafından yapılan çalışmada, 50 °C sıcaklıktaki elma suyuna, 9 g h/L konsantrasyonunda ozonlama işlemi uygulanmıştır. 45 dakika süreyle yapılan ozonlama sonrasında *E. coli* O157:H7 patojeninde 6 logaritma düzeyde inaktivasyon gözlenmiştir. Aynı çalışmada 30 dakika süreyle yapılan ozonlama sonrasında *Salmonella* patojeninde 4.8 log logaritma düzeyinde inaktivasyon sağlandığı belirlenmiştir.

Cavalcante vd. (2014) ozonlanmış suyun *E. coli* O157:H7 ve *B. subtilis*'in kontrolü için etkisini araştırdıkları çalışmalarında, 0.6, 0.8 ve 1.0 mg/L konsantrasyonlarında ozonlama işlemlerini 1, 3 ve 5 dakikalık sürelerle uygulamışlardır. 1 mg/L konsantrasyonda 1 dakika süre ile yapılan sulu ozonlama işlemi sonrasında *E. coli*

O157:H7 patojen popülasyonunda 6,6 log düzeyinde, *B. subtilis* patojen popülasyonunda ise 5,3 log düzeyinde inaktivasyon olduğu tespit edilmiştir.

Yapılan bazı araştırmalarda ozonlama işlemlerinin küf ve mantarlara karşı da etkili bir inaktivasyon sağladığı ortaya konulmuştur.

Mari vd. (2003) yaptıkları çalışmada, ozonlanmış su uygulamasının armutlar yüzeyinde gelişebilen küf türlerinin üzerindeki inaktivasyon etkisini araştırmışlardır. Bazı meyvelerin bozulmasına yol açabilen küf türlerinden olan *Penicillium expansum*, *Botrytis cinerea* ve *Mucor piriformis* sporlarının çimlenmesi üzerinde ozonlanmış su kullanımının etkili olduğu belirlenmiştir. 0,99 - 0,4 mg/ L arası konsantrasyonlarda ve 5 dakika süreyle yapılan ozonlu su uygulamasının bu küf türlerine ait sporları üzerinde inaktivasyon etkisi olduğu ortaya konulmuştur.

Ozonlama işlemlerinin çalışıldığı bu tür araştırmalarda, test edilen mikroorganizma türüne, üründeki mikrobiyal yük oranına, denemelerde kullanılan sebze ve meyvelerin çeşidine ve yapısal özelliklerine, inokülasyon yöntemi ve diğer çalışma koşullarına bağlı olarak çeşitli sonuçların elde edildiği görülmektedir.

Ozonlama işlemlerinin etkinliğini belirlemek amacıyla yapılan birçok çalışmada ozon miktarı ve ozonlama sürelerinin, çeşitli uygulama kriterleri ( sıcaklık, pH, ozonun gaz formda veya sulu ortamda uygulanması, mikrobaloncuk formda ozonlama gibi) ile değerlendirildiği kaydedilmiştir. Ozonlama işlemlerinin süresi ve ozonlama miktarları, bahsedilen çeşitli faktörlerinde çalışıldığı araştırmalarda, bu faktörler ayrı olarak veya birlikte ele alınmış ve birbiri ile uyumlu olan ve çelişkili olan sonuçların ortaya konulduğu gözlenmiştir.

Bazı çalışmalarda, ozonlama süresindeki veya ozonlama miktarındaki artışın mikrobiyal inaktivasyon üzerinde olumlu etkisi olduğu belirlenirken diğer bazı çalışmalarda ise ozonlama süresinin daha uzun uygulanması veya ozonlama miktarının artırılması sonucu önemli düzeyde mikrobiyal azalma sağlanmadığı ortaya konulmuştur.

Karaca ve Velioglu (2014) tarafından yapılan çalışmada ıspanak, marul ve maydanozda sulu ozonlama, ayrıca maydanozda gaz şeklinde ozonlama işlemleri uygulanmıştır. Ozonlanmış su ile yıkama işlemlerinin *E. coli* ve *L. innocua* inaktivasyonu üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Sulu ozon uygulamalarında 12 ppm miktarında ozonlama işlemi 5 ve 15 dakika sürelerle uygulanmış ancak 5 dakika ve 15 dakika gibi farklı iki süre uygulamasının mikrobiyal inaktivasyon üzerinde önemli düzeyde farklılık sağlamadığını belirlemişlerdir.

Meyve ve sebzelerin yıkanmasında en çok tercih edilen ve uygulanan saf su, çeşme suyu veya klorlu su ile yıkama gibi klasik yıkama işlemlerine göre ozonlama işlemlerinin etkinliğini belirlemek amacıyla yapılan çalışmalar da bulunmaktadır. Bu tür yıkama işlemleri ozonlama işlemleri ile birlikte ayrıca uygulanmış ve sonuçlar değerlendirilmiştir.

Karaca ve Velioglu (2014) yaptıkları çalışmada 12 ppm ozonlama işlemini 15 dakika uyguladıkları deneme sonuçlarını aynı koşullarda gerçekleştirdikleri saf su ve klorlu su (100 ppm) ile yıkama işlemleri ile kıyaslamışlar ve sebzeleri saf suyla yıkadıkları deneme sonuçlarında, *E. coli* sayısında 0,99- 1,12 log, *L. innocua* için 0,71-1,29 log düzeylerinde düşüşlerin olduğunu kaydetmişlerdir.

Karaca ve Velioglu (2014) çalışmalarında ozonla yıkama ve klorla yıkama işlemleri sonucu bu uygulamaların saf su ile yıkamadan çok daha etkili olduğunu kaydetmişlerdir. Aynı zamanda klorlu suyla yıkamanın ozonlu suyla yıkama işlemlerinden daha etkili olduğunu belirlemişlerdir. Marul, ıspanak ve maydanozlarda *E. coli* düzeylerinin klorlu su ile yıkama işlemleri sonrasında sırasıyla 2,88; 2,70 ve 2,98 log oranlarında düşüşler gözlemlemişlerdir. Ozonlu su ile yıkama işlemleri sonrasında ise bu oranların 2,07; 1,70 ve 2,20 log düzeyinde olduğu belirlenmiştir.

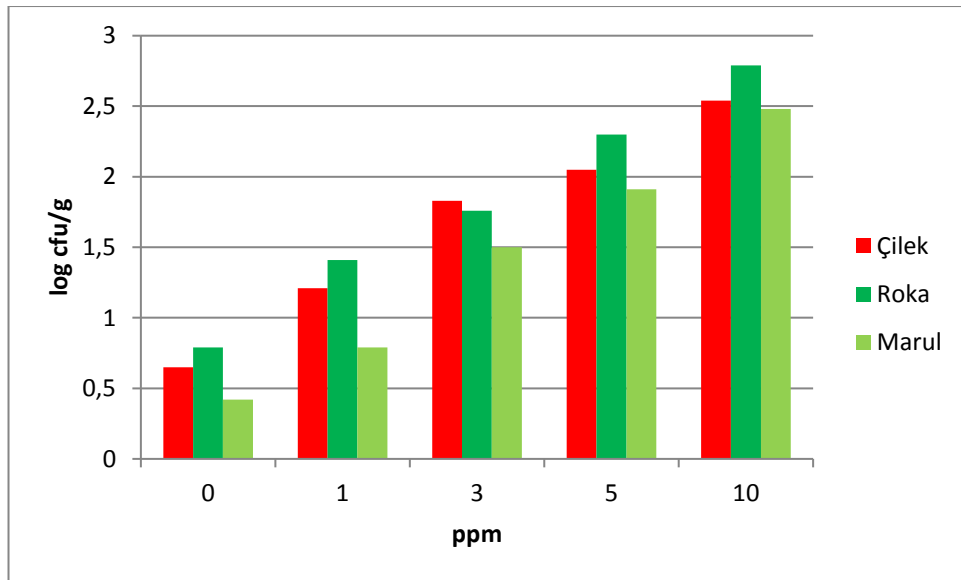
Yapılan tez çalışmasında turizm işletmelerinde yıkama amacıyla kullanılan çeşme suyu kullanıldığı için yıkama işlemlerinde ayrıca çeşme suyu ile yıkama işlemleri de gerçekleştirilmiştir. Yaklaşık 0,3 ppm klor içeren şebeke suyu ile yapılan yıkama işlemlerinde çilek, roka ve marulda *Salmonella* spp. sayısında sırasıyla 0,65; 0,79; 0,42 logaritmik oranda düşüşler belirlenmiştir. Aynı zamanda çilek, roka ve marulda

sırasıyla bu düşüş oranlarının *E.coli* O157:H7 için 0,48; 0,42; 0,54 log, *L. monocytogenes* için ise 0,40; 0,42; 0,31 log düzeylerinde olduğu gözlenmiştir. Toplam koliform bakteri düzeylerinde de benzer şekilde çeşme suyu ile yıkama işlemlerinin sınırlı düzeyde etkili olduğu belirlenmiştir. Çilek, roka ve marul için sırasıyla 0,49; 0,47; 0,26 log düzeylerinde düşüşler tespit edilmiştir.

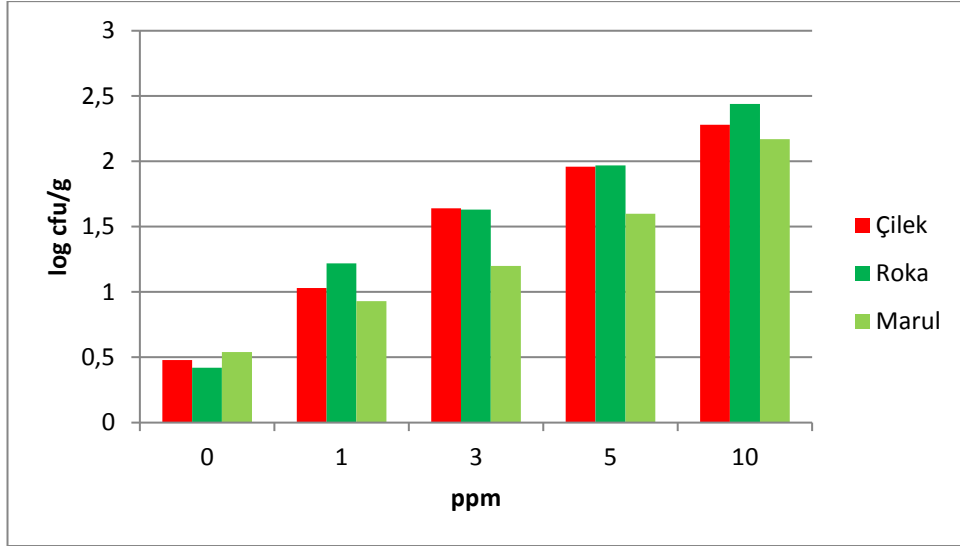
Toplam mezofil bakteri düzeylerinde de benzer şekilde çeşme suyu ile yıkama işlemlerinin sınırlı düzeyde etkili olduğu belirlenmiştir. Çilek, roka ve marul için sırasıyla 0,34; 0,28; 0,34 log düzeylerinde düşüşler tespit edilmiştir.

Toplam maya küf düzeylerinde ise çeşme suyu ile yıkama işlemlerinin sınırlı düzeyde etkili olduğu belirlenmiştir. Çilek, roka ve marul için sırasıyla 0,35; 0,25; 0,47 log düzeylerinde düşüşler tespit edilmiştir.

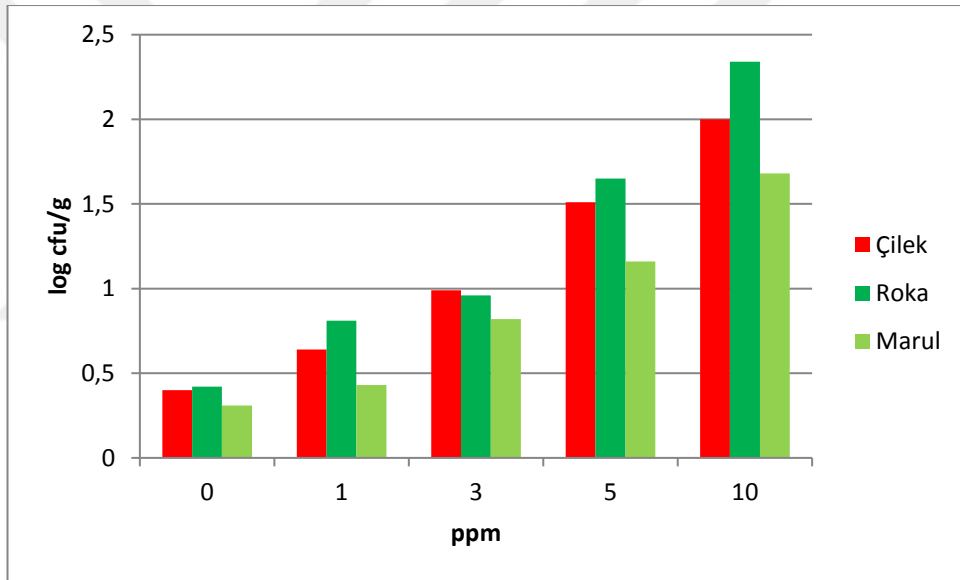
Mikrobiyolojik analizlerde süre ve ozon konsantrasyonu arttıkça mikrobiyolojik inaktivasyon doğru orantılı şekilde artmıştır. Grafik 5.1'de süre ve ozonun mikrobiyolojik inaktivasyona olan etkisi görülmektedir.



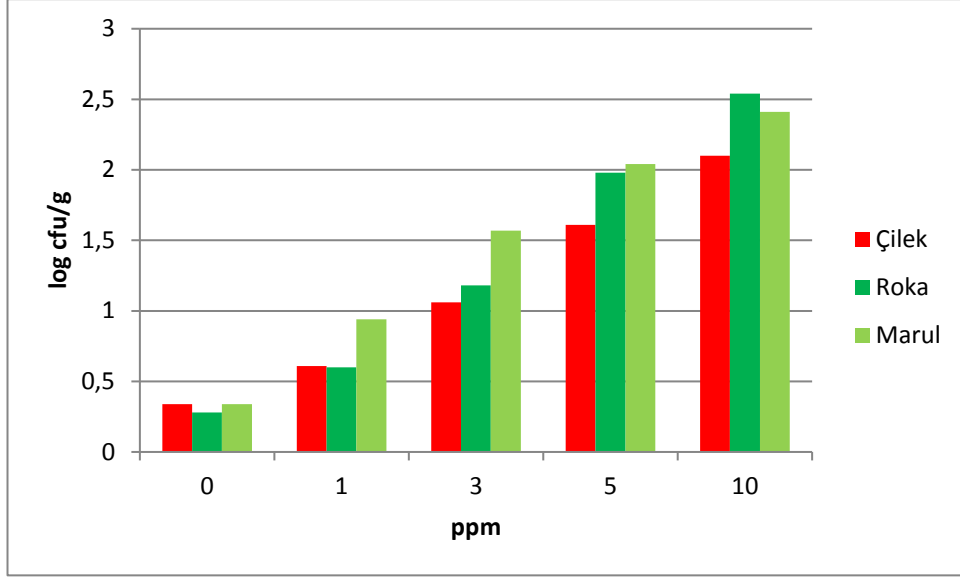
Grafik 5.1. Ozonun *Salmonella spp.* inaktivasyonu



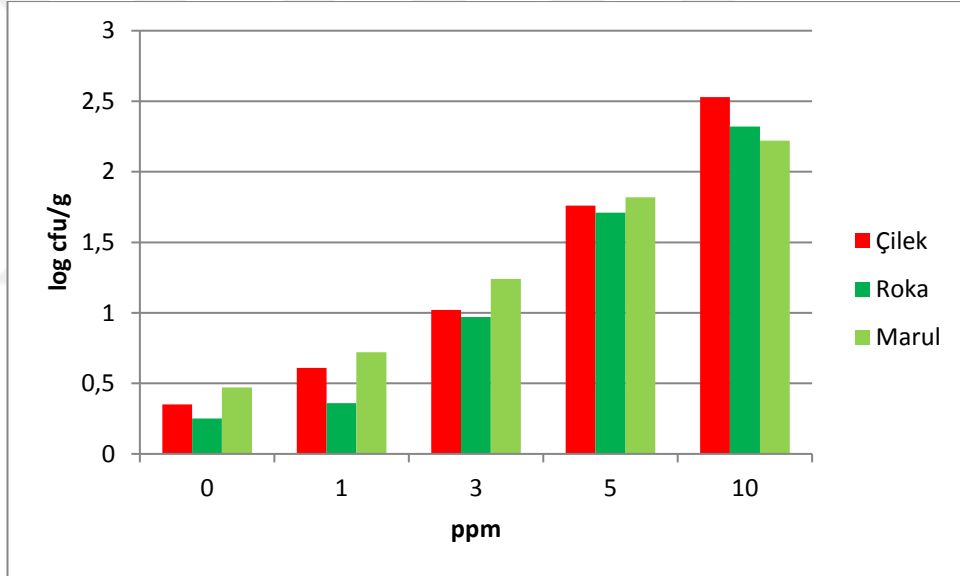
Grafik 5.2. Ozonun *E.coli* inaktivasyonu



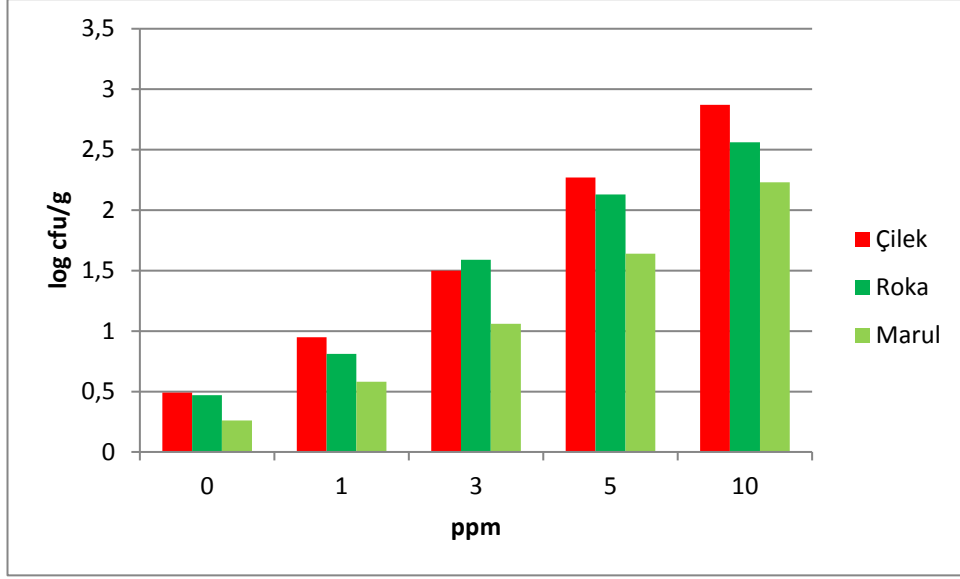
Grafik 5.3. Ozonun *Listeria monocytogenes* inaktivasyonu



Grafik 5.4. Ozonun toplam aerob bakteri inaktivasyonu

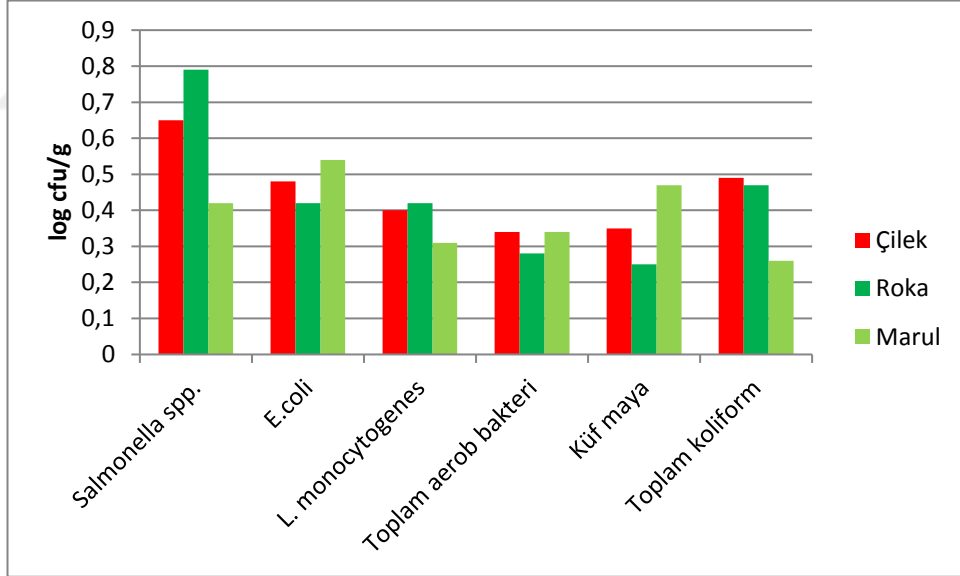


Grafik 5.5. Ozonun küf maya inaktivasyonu



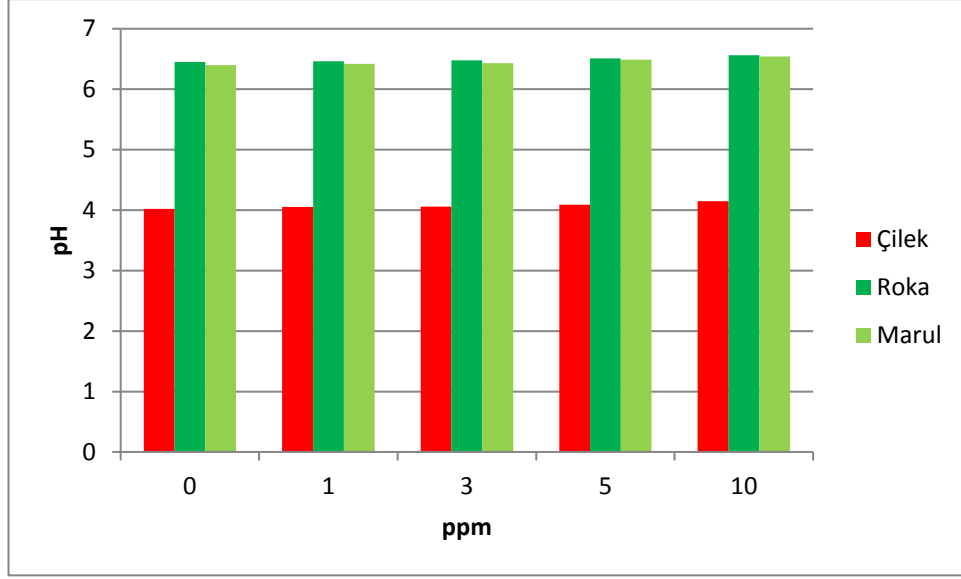
Grafik 5.6. Ozonun toplam koliform inaktivasyonu

Ayrıca tüketime hazır meyve ve sebzelerin yıkama suyu ile yıkandıktan sonraki mikrobiyal değişimi Grafik 5.7’de verilmiştir.



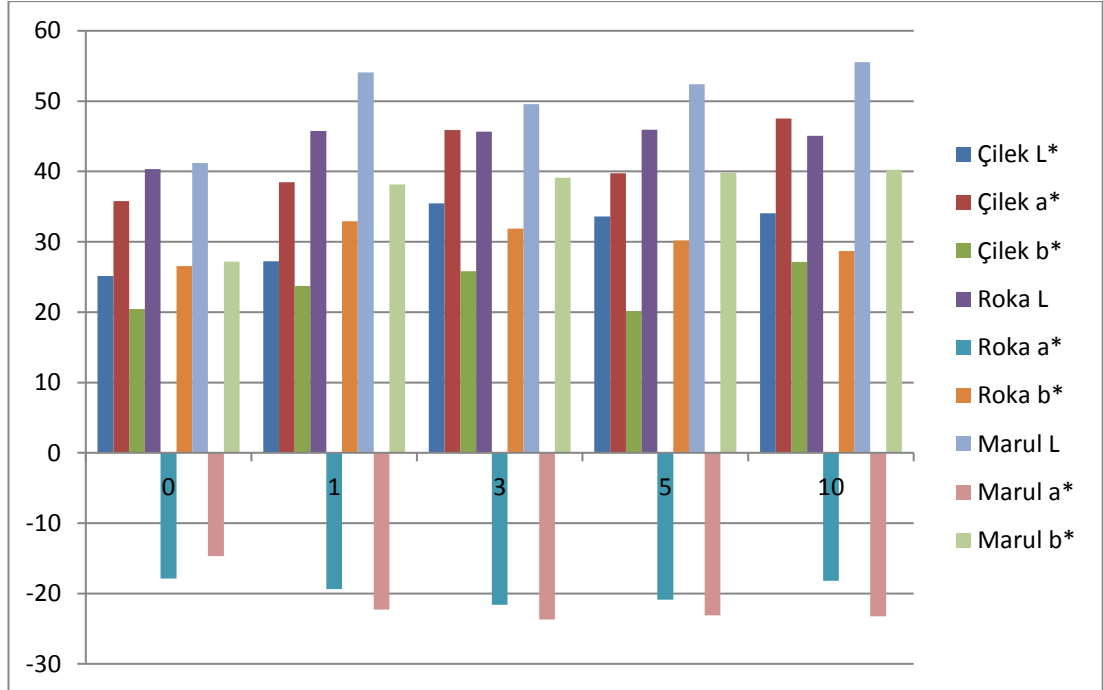
Grafik 5.7. Kullanım suyu ile yıkama

Ozon uygulamasının tüketime hazır meyve ve sebzeler de pH üzerine etkisi incelendiğinde, ozonun pH üzerine etki göstermediği tespit edilmiştir. Ozon öncesi ve sonrası elde edilen pH değerleri Grafik 5.8’de gösterilmiştir.



Grafik 5.8. Ozonun pH üzerine etkisi

Meyve ve sebzelerin dezenfeksiyon işleminde kullanılan bazı yöntemler ürünlerin renklerinde olumsuzluklar yaratabilmektedir. Özellikle klor ve ozona uzun süre maruz kalan yeşil yapraklı tüketime hazır ürünlerin renkleri sarımsı bir renk haline dönebilmektedir. Çilek, roka ve marulda yapılan renk analizinde Grafik 5.9'da verilen değerler tespit edilmiştir.



Grafik 5.9. Ozonun l\* a\* b\* değerlerine etkisi

Wang vd., (2021), yaptıkları çalışmada marulu ozonlu bir depoda bekletmişlerdir. L\* ve a\* değerleri esmerleşme derecesini yansıtmaktadır. Depolama sonucunda ozon uygulanan marul grubundaki L\* ve a\* değerleri kontrol grubunun değerlerine benzer çıkmıştır. Bu da marul yüzeyinin hafif hasarlı olduğunu ve önemli renk değişikliklerine neden olmadığını göstermektedir.

Ölmez ve Akbas (2009), yaptıkları çalışmada 2 ppm 2 dakika ozon uygulamasının, soğuk depolama sırasında mikrobiyal yükün azaltılması ve duyu kalitenin korunması açısından yeşil yapraklı marulun ozon dezenfeksiyonu için en uygun koşullar olduğunu bulmuştur. Yapılan uygulama sonucunda 9 günlük depolama süresince yeşil yapraklı marulun duyu kalitesini korumada 2 ppm ozon uygulamasının klor ve organik asit uygulamalarına göre daha iyi olduğu görülmüştür.

Ozonun bir çok farklı kullanım alanı bulunmaktadır. Bunlarda bir tanesi de meyve ve sebzelerde kullanılan pestisitleri uzaklaştırmaktır

Ozon, klor vb. uygulamalarda süre eğer uzun olursa gıda üzerinde renk ve tat parametrelerinde olumsuzluklar yaratabilmektedir. Bu sebeple uygulanacak olan kimyasalın dozu ve süresi yüksek önem taşımaktadır. Ürün üzerinde yaşanabilecek herhangi bir renk değişimi (özellikle yeşil yapraklı sebzelerde sararma) müşteri tarafından kabul edilmeyecektir. Yapmış olduğumuz çalışmada 10 paneliste 3 dakika ve 7 dakika ozonlanmış marul, roka ve çilekleri hem görsel hem de lezzet açısından değerlendirmeleri istenmiştir. Öncesi ve sonrasında herhangi bir değişiklik olup olmadığı sorulmuş ve panelistler bu seviyelerde uygulanan ozon işleminden ürünlerin olumsuz etkilenmediğini belirtmiştir.

Yapılan tez çalışmasında ozonun etkili bir dezenfeksiyon kimyasalı olduğu görülmektedir. Turizm tesislerinde ozon çok yaygın olarak kullanılmaktadır. Ozonun tüketime hazır meyve ve sebzelerde etkisi birçok farklı çalışma ile ortaya konmuştur. Ancak ozonun etkili olması tek başına yeterli değildir. Turizm tesislerinde meyve sebze dezenfeksiyonu yapılan bölüm, kullanılan suyun kalitesi, ozon uygulamasını yapan personelin hijyeni, kullanılan alet ve ekipmanların hijyeni etkili faktörlerdir. Ozon doğru doz ve süre de mikrobiyal inaktivasyon için etkilidir. Ozon uygulamasını yapacak olan personel, gıda güvenliği eğitimi alarak tüketiciye güvenilir gıdayı

sunabilir. Ayrıca ozonun yüksek konsantrasyonlarda toksik etki gösterebilmesi mümkündür bu konuda dikkatli olunması mecburidir. Mevcut uygulamalar doğrultusunda ozonlama işlemleriyle meyve ve sebzelerin yıkanmasında belirli düzeylerde mikrobiyal inaktivasyon sağlandığı gözlemlenmiştir. Ancak ozonlama yöntemi ile turizm tesislerinde daha etkili yıkama işlemlerinin gerçekleştirilmesi amacıyla kullanılacak alternatif süre ve konsantrasyon düzeylerinin, test edilmesi ve uygulanabilirliğinin belirlenmesi gerekmektedir. Dolayısıyla daha etkili ozonlama işlemlerinin geliştirilmesi için optimizasyon çalışmalarına ihtiyaç olduğu düşünülmektedir.



## 6. KAYNAKLAR

- Achen, M., & Yousef, A.E. (2001). Efficacy of ozone against *Escherichia coli* O157:H7 on apples. *Journal of Food Science*, 66(9), 1380–1384. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2001.tb15218.x>
- Alexandre, E. M. C., Santos-Pedro, D. M., Brandão, T. R. S., & Silva, C. L. M. (2011). Influence of aqueous ozone, blanching and combined treatments on microbial load of red bell peppers, strawberries and watercress. *Journal of Food Engineering*, 105(2), 277–282. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.02.032>
- Alexopoulos, A., Plessas, S., Ceciu, S., Lazar, V., Mantzourani, I., Voidarou, C., ... Bezirtzoglou, E. (2013). Evaluation of ozone efficacy on the reduction of microbial population of fresh cut lettuce (*Lactuca sativa*) and green bell pepper (*Capsicum annuum*). *Food Control*, 30(2), 491–496. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.09.018>
- Artés-Hernández, F., Aguayo, E., & Artés, F. (2004). Alternative atmosphere treatments for keeping quality of “Autumn seedless” table grapes during long-term cold storage. *Postharvest Biology and Technology*, 31(1), 59–67. [https://doi.org/10.1016/S0925-5214\(03\)00116-9](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(03)00116-9)
- Baur, S., Klaiber, R. G., Koblo, A., & Carle, R. (2004). Effect of different washing procedures on phenolic metabolism of shredded, packaged iceberg lettuce during storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(23), 7017–7025. <https://doi.org/10.1021/jf048961a>
- Bell, L., Methven, L., Signore, A., Oruna-Concha, M. J., & Wagstaff, C. (2017). Analysis of seven salad rocket (*Eruca sativa*) accessions: The relationships between sensory attributes and volatile and non-volatile compounds. *Food Chemistry*, 218, 181–191. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.076>
- Botondi, R., Barone, M., & Grasso, C. (2021). A review into the effectiveness of ozone technology for improving the safety and preserving the quality of fresh-cut fruits and vegetables. *Foods*, 10(4). <https://doi.org/10.3390/foods10040748>
- BULGAN, G., & DOLMACI, Ni. (2018). *To View Importance of Food Safety in Tourism From Health Perspective That Is a Human*. 2, 2–4.
- Carletti, L., Botondi, R., Moschetti, R., Stella, E., Monarca, D., Cecchini, M., & Massantini, R. (2013). Use of ozone in sanitation and storage of fresh fruits and vegetables. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 11(3–4), 585–589.
- Çatal, H., & İBANOĞLU, Ş. (2010). *G ı dalar ı n Ozonlanmas ı Ozonation of Foods*. 2010(3), 47–55.

- Cavalcante, D. A., Leite Júnior, B. R. D. C., Tribst, A. A. L., & Cristianini, M. (2014). Inativação de *Escherichia coli* O157:H7 e *Bacillus subtilis* por água ozonizada. *Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos*, 32(1), 105–112. <https://doi.org/10.5380/cep.v32i1.36931>
- Çelik, O. (2019). Ozon Uygulamasının, Etlik Piliç Yemlerinin Mikrobiyolojik Özellikleri Ve Besin Madde Kompozisyonu Üzerine Etkileri. *Yüksek Lisans Tezi/TEKİRDAĞ*, 1–89.
- Dehkordi, B. M., & Zokai, N. (2010). Extension of fish shelf life by ozone treatment. *World Academy of Science, Engineering and Technology*, 38(2), 984–986.
- Ekici, L., Sağdıç, O., & Kesmen, Z. (2006). Gıda Endüstrisinde Alternatif Bir Dezenfektan- Ozon. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 1(1), 47–57.
- Garcia, A., Mount, J. R., & Davidson, P. M. (2003). Ozone and Chlorine Treatment. *Journal of Food Science*, 68(9), 2747–2751.
- Glowacz, M., & Rees, D. (2016). The practicality of using ozone with fruit and vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(14), 4637–4643. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7763>
- Hassenberg, K., & Idler, C. (2005). Influence of Washing Method on the Quality of Prepacked Iceberg Lettuce. *Agricultural Engineering*, VII(Beuchat 1998), 1–8.
- Horvath, M. (1985). *Ozone*, Elsevier, New York.
- Inatsu, Y., Kitagawa, T., Nakamura, N., Kawasaki, S., Nei, D., Bari, M.L., & Kawamoto, S. (2013). Effectiveness of stable ozone microbubble containing water on reducing bacteria load on selected leafy vegetables. *Acta Horticulturae*, 989, 161–166. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2013.989.20>
- ISO. (2001). *ISO 16649-2 Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of positive Escherichia coli —*.
- ISO. (2014). *Mikroorganizmaların sayımı için yatay yöntem -Bölüm 1: Dökme plak tekniğiyle 30°C'ta koloni sayımı*.
- ISO. (2017a). *International Standard 11290 Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection and enumeration of Listeria*. 2017.
- ISO. (2017b). *INTERNATIONAL STANDARD 6579 Horizontal method for the detection , enumeration and serotyping of*. 2017.
- Jablasone, J., Warriner, K., & Griffiths, M. (2005). Interactions of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium* and *Listeria monocytogenes* plants cultivated in a gnotobiotic system. *International Journal of Food Microbiology*, 99(1), 7–18. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.06.011>

- Jaksch, D., Margesin, R., Mikoviny, T., Skalny, J. D., Hartungen, E., Schinner, F., ... Märk, T. D. (2004). The effect of ozone treatment on the microbial contamination of pork meat measured by detecting the emissions using PTR-MS and by enumeration of microorganisms. *International Journal of Mass Spectrometry*, 239(2–3), 209–214. <https://doi.org/10.1016/j.ijms.2004.07.018>
- Jin-Gab Kim, M. A. (1995). Information To Users Umi. *Dissertation, Ph.D. Thes*(Structural Biology and Molecular Biophysics, University of Pennsylvania, PA, USA.), 274.
- Kader, A. A., & Rolle, R. S. (2004). Food & Agriculture Organization Of The United States Of America: The role of post-harvest management in assuring the quality and safety of horticultural produce. In *FAO Agricultural Services Bulletin* (Vol. 152). Retrieved from <http://www.fao.org/3/a-y5431e.pdf>
- Karaca, H., & Velioglu, Y. S. (2014). Effects of ozone treatments on microbial quality and some chemical properties of lettuce, spinach, and parsley. *Postharvest Biology and Technology*, 88, 46–53. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2013.09.003>
- Kim, J. G., Yousef, A. E., & Chism, G. W. (1999). Use of ozone to inactivate microorganisms on lettuce. *Journal of Food Safety*, 19(1), 17–34. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4565.1999.tb00231.x>
- Klockow, P. A., & Keener, K. M. (2009). Safety and quality assessment of packaged spinach treated with a novel ozone-generation system. *LWT - Food Science and Technology*, 42(6), 1047–1053. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.02.011>
- Koseki, S., Fujiwara, K., & Itoh, K. (2002). Decontaminative effect of frozen acidic electrolyzed water on lettuce. *Journal of Food Protection*, 65(2), 411–414. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-65.2.411>
- Mari, M., Bertolini, P., & Pratella, G. C. (2003). Non-conventional methods for the control of post-harvest pear diseases. *Journal of Applied Microbiology*, 94(5), 761–766. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2003.01920.x>
- Merve TÜMAY. (2019). *Ozonun, Bazı Yeşil Yapraklı Sebzelerde Antibakteriyel Etkisinin Belirlenmesi NEVŞEHİR*.
- Murray, K., Wu, F., Shi, J., Jun Xue, S., & Warriner, K. (2017). Challenges in the microbiological food safety of fresh produce: Limitations of post-harvest washing and the need for alternative interventions. *Food Quality and Safety*, 1(4), 289–301. <https://doi.org/10.1093/fqsafe/fyx027>
- Mustafa Yesil, B., Yousef, A. E., & Sheryl Barringer Sudhir K Sastry, A. A. (2012). *EFFICACY OF GASEOUS OZONE IN COMBINATION WITH VACUUM COOLING AND PRE-WASHING FOR THE INACTIVATION OF Escherichia coli O157:H7 ON FRESH PRODUCE*.

- Muştu, . (2020). Yiyecek ve İecek İşletmelerinde Ozon Uygulamaları. *Aydin Gastronomy*, 4(1), 45–53. [https://doi.org/10.17932/iau.gastronomy.2017.016/2020.401/gas\\_v04i1005](https://doi.org/10.17932/iau.gastronomy.2017.016/2020.401/gas_v04i1005)
- Ölmez, H., & Akbas, M. Y. (2009). Optimization of ozone treatment of fresh-cut green leaf lettuce. *Journal of Food Engineering*, 90(4), 487–494. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2008.07.026>
- Pazır, F., & Turan, F. (2017). Meyve Ve Sebzelerde Karşılaşılabilen Baz Pestişilt Kalıntılarının Uzaklaştirilmasında Kullanılan eşişli Yöntemler. *Journal of Food and Health Science*, 3(3), 109–116. <https://doi.org/10.3153/jfhs17014>
- Remondino, M., & Valdenassi, L. (2018). Different uses of ozone: Environmental and corporate sustainability. Literature review and case study. *Sustainability (Switzerland)*, 10(12). <https://doi.org/10.3390/su10124783>
- Rice, R. G. (n.d.). *RECENT DEVELOPMENTS IN AGRI-FOOD APPLICATIONS OF OZONE*.
- Roy, S., Choudhury, B., Johnson, J., & Schindler-Tyka, A. (2021). Application of dielectric barrier discharge for improving food shelf life and reducing spoilage. *Scientific Reports*, 11(1), 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-96887-3>
- Saldaña, Z., Sánchez, E., Xicohtencatl-Cortes, J., Puente, J. L., & Girón, J. A. (2011). Surface structures involved in plant stomata and leaf colonization by Shiga-toxicogenic *Escherichia coli* O157: H7. *Frontiers in Microbiology*, 2(MAY), 1–9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2011.00119>
- Sarig, P., Zahavi, T., Zutkhi, Y., Yannai, S., Lisker, N., & Ben-Arie, R. (1996). Ozone for control of post-harvest decay of table grapes caused by *Rhizopus stolonifer*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 48(6), 403–415. <https://doi.org/10.1006/pmpp.1996.0032>
- Sela, S., & Fallik, E. (2009). Microbial Quality and Safety of Fresh Produce. In *Postharvest Handling* (Second Edi). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374112-7.00013-5>
- Selma, M. V., Beltrán, D., Allende, A., Chacón-Vera, E., & Gil, M. I. (2007). Elimination by ozone of *Shigella sonnei* in shredded lettuce and water. *Food Microbiology*, 24(5), 492–499. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2006.09.005>
- Sharma, R. R., Demirci, A., Beuchat, L. R., & Fett, W. F. (2002). Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 on inoculated alfalfa seeds with ozonated water under pressure. *Journal of Food Safety*, 22(2), 107–119. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4565.2002.tb00334.x>
- Skog, L. J., & Chu, C. L. (2001). Effect of ozone on qualities of fruits and vegetables in cold storage. *Canadian Journal of Plant Science*, 81(4), 773–778. <https://doi.org/10.4141/p00-110>

- Souza, L. P. de, Faroni, L. R. D. A., Heleno, F. F., Cecon, P. R., Gonçalves, T. D. C., Silva, G. J. da, & Prates, L. H. F. (2018). Effects of ozone treatment on postharvest carrot quality. *LWT - Food Science and Technology*, *90*, 53–60. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.11.057>
- Suslow, T. V. (2004). Ozone Applications for Postharvest Disinfection of Edible Horticultural Crops. *Ozone Applications for Postharvest Disinfection of Edible Horticultural Crops*. <https://doi.org/10.3733/ucanr.8133>
- Tournas, V. H. (2005a). Moulds and yeasts in fresh and minimally processed vegetables, and sprouts. *International Journal of Food Microbiology*, *99*(1), 71–77. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.08.009>
- Tournas, V. H. (2005b). Spoilage of vegetable crops by bacteria and fungi and related health hazards. *Critical Reviews in Microbiology*, *31*(1), 33–44. <https://doi.org/10.1080/10408410590886024>
- TUIK. (2020). *Turizm İstatistikleri, IV.Çeyrek: Ekim-Aralık ve Yıllık, 2019*. 7–10.
- Ullmann. (2005). *Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry*, VCH Verlagsgesellschaft. (2), 1987.
- van Gennip, M., Christensen, L. D., Alhede, M., Qvortrup, K., Jensen, P. Ø., Høiby, N., ... Bjarnsholt, T. (2012). Interactions between polymorphonuclear leukocytes and *Pseudomonas aeruginosa* biofilms on silicone implants in vivo. *Infection and Immunity*, *80*(8), 2601–2607. <https://doi.org/10.1128/IAI.06215-11>
- Vurma, M., Pandit, R. B., Sastry, S. K., & Yousef, A. E. (2009). Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and natural microbiota on spinach leaves using gaseous ozone during vacuum cooling and simulated transportation. *Journal of Food Protection*, *72*(7), 1538–1546. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-72.7.1538>
- Wang, J., Zhang, Y., Yu, Y., Wu, Z., & Wang, H. (2021). Combination of ozone and ultrasonic-assisted aerosolization sanitizer as a sanitizing process to disinfect fresh-cut lettuce. *Ultrasonics Sonochemistry*, *76*(June), 105622. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2021.105622>
- Wang, L., Shao, H., Luo, X., Wang, R., Li, Y., Li, Y., ... Chen, Z. (2016). Effect of ozone treatment on deoxynivalenol and wheat quality. *PLoS ONE*, *11*(1), 1–13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0147613>
- Wani, S., Maker, J., Thompson, J., Barnes, J., & Singleton, I. (2015). Effect of Ozone Treatment on Inactivation of *Escherichia coli* and *Listeria* sp. on Spinach. *Agriculture*, *5*(2), 155–169. <https://doi.org/10.3390/agriculture5020155>

- Williams, R. C., Sumner, S. S., & Golden, D. A. (2004). Survival of Escherichia coli O157:H7 and Salmonella in apple cider and orange juice as affected by ozone and treatment temperature. *Journal of Food Protection*, 67(11), 2381–2386. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-67.11.2381>
- Youm, H.-J., Jang, J.-W., Kim, H.--J., Park, E.-K., & Song, K.-B. (2004). *Effect of Chemical Treatment with Citric Acid or Ozonated Water on Microbial Growth and Polyphenoloxidase Activity in Lettuce and Cabbage*.
- Yuk, H. G., Yoo, M. Y., Yoon, J. W., Marshall, D. L., & Oh, D. H. (2007). Effect of combined ozone and organic acid treatment for control of Escherichia coli O157:H7 and Listeria monocytogenes on enoki mushroom. *Food Control*, 18(5), 548–553. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2006.01.004>
- Zainuri, Jayaputra, Sauqi, A., Sjah, T., & Desiana, R. Y. (2018). Combination of ozone and packaging treatments maintained the quality and improved the shelf life of tomato fruit. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 102(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/102/1/012027>
- Zhou, S. Y. D., Wei, M. Y., Giles, M., Neilson, R., Zheng, F., Zhang, Q., ... Yang, X. R. (2020). Prevalence of Antibiotic Resistome in Ready-to-Eat Salad. *Frontiers in Public Health*, 8(March), 1–9. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2020.00092>